A CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Pesquisa e Aplicações

VOLUME 3

Editora Poisson

Editora Poisson

Ciência dos Alimentos
Pesquisa e Aplicações
Volume 3

1ª Edição

Belo Horizonte
Poisson
2024

Editor Chefe: Dr. Darly Fernando Andrade

Conselho Editorial
Dr. Antônio Artur de Souza – Universidade Federal de Minas Gerais
MSc. Davilson Eduardo Andrade
Dra. Elizângela de Jesus Oliveira – Universidade Federal do Amazonas
MSc. Fabiane dos Santos
Dr. José Eduardo Ferreira Lopes – Universidade Federal de Uberlândia
Dr. Otaviano Francisco Neves – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
Dr. Luiz Cláudio de Lima – Universidade FUMEC
Dr. Nelson Ferreira Filho – Faculdades Kennedy
MSc. Valdiney Alves de Oliveira – Universidade Federal de Uberlândia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569

Ciência dos Alimentos: Pesquisa e Aplicações - Volume 3/
Organização: Editora Poisson – Belo Horizonte - MG: Editora Poisson - 2024

Formato: PDF
ISBN: 978-65-5866-441-3
DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3

Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia

1. Tecnologia de Alimentos 2. Alimentos 3. Nutrição I. Título

CDD-664.005

Sônia Márcia Soares de Moura – CRB 6/1896

O conteúdo deste livro está licenciado sob a Licença de Atribuição Creative Commons 4.0.
Com ela é permitido compartilhar o livro, devendo ser dado o devido crédito, não podendo ser utilizado para fins comerciais e nem ser alterado.

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

Esse e outros títulos podem ser baixados gratuitamente em www.poisson.com.br
Entre em contato pelo contato@poisson.com.br

SUMÁRIO

Capítulo 1: Alimentos funcionais e o câncer 06

Maria da Conceição Tavares Cavalcanti Liberato

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.01

Capítulo 2: Prebióticos e probióticos: geração de alimentos funcionais..... 12

Elienae da Silva Gomes, Ana Caroline Raimundini Aranha, Bruno Rafael Del Rio Vieira, Caroline Crivelaro de Oliveira, Deise Molinari, Dulcicler Nelo Mariano, Emerson Barrios Mogollon, Luís Miguel Trigos Sanchez, Julie Suzan da Silva, Pither Jhoel Javier Sucari, Vinício dos Santos Cardoso, Yesenia Milagros Turpo Mamani

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.02

Capítulo 3: *Scaffolds* inovadores para estruturação de carne cultivada: engenharia de estruturas biológicas para a alimentação do futuro 24

Creciana Maria Endres, Rubieli Carla Frezza Zeferino, Sthéfani da Cunha, Joseane Cristina Bassani, Yara Munike Pereira Truppel, Anderson de Carvalho Fernandes, Micheli Zanetti

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.03

Capítulo 4: Potencial da biofortificação agronômica utilizando micronutriente em alface, batata, cebola, cenoura e tomate 36

Allan Sales de Sousa, Noé Mitterhofer Eiterer Ponce de Leon da Costa, Carolina Pereira de Paula, Agostinho Cardoso Hlavanguane, Adilon Martins Rocha, Carmiran Batista Turíbio, Ildon Rodrigues do Nascimento

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.04

Capítulo 5: Subprodutos da agroindústria na alimentação de frangos de corte 44

Juliana Ferreira de Almeida, Claudete Maria da Silva Moura, José Anderson da Silva, Glayciane Costa Gois

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.05

Capítulo 6: Obtenção de vinagre de cevada a partir do resíduo de fermentação da indústria cervejeira 57

Valentina Signor Montovaneli, Guilherme Grigolo Kielb, Janayne Sander Godoy, Creciana Maria Endres, Rubieli Carla Frezza Zeferino, Micheli Zanetti

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.06

SUMÁRIO

Capítulo 7: Fatores que afetam a fermentação alcoólica: revisão e análise 67

Mayra Schmidt Rechsteiner

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.07

Capítulo 8: Poligalacturonases bacterianas: técnica de cultivo misto e extração de carotenóides 93

Roze Anne Ferreira Lima, Luciana Pereira de Araújo, Catarina Francisca Morais Lima Carvalhinho, Erika Carolina Vieira Almeida, Rafael Firmani Perna, Ezequiel Marcelino da Silva, Jéssica Ferreira de Almeida, Raynne Oliveira Alves, Glêndara Aparecida de Souza Martins, Alex Fernando de Almeida, Larissa Santos Saraiva

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.08

Capítulo 9: Invertase bacteriana: definição e técnicas de purificação 106

Catarina Francisca Morais Lima Carvalhinho, Larissa Santos Saraiva, Roze Anne Ferreira Lima, Luciana Pereira de Araújo, Rafael Fimani Perna, Jéssica Ferreira de Almeida, Raynne Oliveira Alves, Ezequiel Marcelino da Silva, Erika Carolina Vieira Almeida, Glêndara Aparecida de Souza Martins, Alex Fernando de Almeida

DOI: 10.36229/978-65-5866-441-3.CAP.09

Autores 118

Capítulo 1

Alimentos funcionais e o câncer

Maria da Conceição Tavares Cavalcanti Liberato

Resumo: Considerada como a segunda doença que mais mata no mundo, o câncer foi responsável por 9,6 milhões de mortes em 2019. Destes, cerca de um terço apresentou aspectos comportamentais e alimentares inadequados, como baixo consumo de vegetais, falta de atividade física, altos índices de massa corporal e uso de álcool e tabaco. Observou-se que com o início da industrialização, o surgimento de alimentos ultra processados e a popularização dos "fast foods", o aumento de doenças foi inevitável. Dessa forma a relação entre saúde e alimentação nunca esteve tão próxima. Uma má alimentação é responsável por 35% do risco de desencadear um câncer. Os alimentos funcionais produzem efeitos fisiológicos ou metabólicos na manutenção das funções de um organismo vivo através de alguns nutrientes inclusos. Alguns destes são os carotenoides, os flavanoides, os ácidos graxos (w3, w6 e w9), os probióticos e as fibras. A expectativa de vida das pessoas vem aumentando e, também, doenças crônicas como diabetes, hipertensão, câncer e outras. Por isso que adotar uma dieta saudável, além de suprir o organismo, pode prevenir doenças. Neste artigo iremos elaborar uma revisão bibliográfica sobre o assunto, buscando abordar os principais compostos bioativos presentes nos alimentos, suas funções, funcionamento e importância, tanto na suplementação quanto na produção destes.

Palavras-chave: alimentos funcionais, câncer, carotenoides, probióticos.

1. INTRODUÇÃO

Pesquisas relacionadas entre doenças e dietas indicam que vegetais (frutas, hortaliças e cereais) podem conter substâncias que previnem o câncer. Nutricionistas recomendam uma baixa ingestão de gorduras e uma dieta contendo fibras (frutas e hortaliças) para a prevenção de doenças crônicas como as do coração e o câncer. (Arabbi, 2001).

E esta ideia de que o alimento pode curar ou prevenir doenças é bem antiga. Chineses acreditam que o alimento possui efeitos medicinais e há vários anos pães e cerais são fortificados com vitaminas e minerais. Alguns povos apresentam uma baixa incidência de doenças, como os esquimós devido ao alto consumo de produtos marinhos (ricos em ácidos graxos ômega três e seis) que evitam problemas cardíacos. A soja, muito consumida no oriente, possui fitoestrogênios, que previnem o câncer de mama. (Arabbi, 2001).

O câncer, responsável por cerca de 9,8 milhões de mortes em 2018. É a segunda doença que mais mata no mundo. Aspectos inadequados comportamentais e alimentares, como a obesidade, o baixo consumo de frutas e vegetais, a ingestão de álcool e tabaco, por exemplo, estão diretamente relacionados a um terço dos casos registrados. (Mariano, 2018).

A palavra câncer foi usada pela primeira vez por Hipócrates e vem do grego *karkínos* que significa caranguejo. Foi observada essa doença presente em múmias egípcias, sendo comprovado sua existência há mais de três mil anos antes de Cristo. Atualmente, o câncer é caracterizado pelo crescimento desordenado de células, que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos. As células normais podem se multiplicar em um processo contínuo natural e depois morrer de forma ordenada. Entretanto, as células cancerosas, ao invés de morrerem, continuam se multiplicando descontroladamente e, assim, outras células anormais vão surgindo. Esse crescimento rápido e agressivo se espalha para todo o corpo, causando transtornos funcionais, como o câncer (Souza, 2020).

Alimentos funcionais são aqueles, que quando consumidos, trazem uma ação benéfica além da nutricional, podendo ser antioxidantes e/ou auxiliares no processo de prevenção do envelhecimento e de doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT). No caso do câncer, estudos mostram que vegetais e hortaliças apresentam milhares de micronutrientes capazes depreveni-lo. (Mariano, 2018).

De acordo com Bray et al. (2014), doenças não transmissíveis são as grandes responsáveis pelas mortes globais e a estimativa é que o câncer seja a principal causa demorte em todos os países do mundo no século 21. Segundo o INCA (2020), a estimativa para cada ano do triênio 2020-2022 aponta que ocorrerão 625 mil casos novos de câncer no Brasil, incluindo os casos de câncer de pele não melanoma, sendo este o mais incidente (177 mil).Em seguida estão cânceres de mama e próstata (66 mil cada), cólon e reto (41 mil), pulmão (30 mil) e estômago (21 mil).

2. DESENVOLVIMENTO

“Um alimento é dito funcional se contém um componente alimentar (nutriente ou não) que afeta uma ou mais funções específicas do corpo de modo positivo.” Foreword (1998 apud Bianco, 2008).

A concepção mais adequada referente aos alimentos funcionais está além da função de nutrir. Em 1920 surgiu com o acréscimo do iodo ao sal para o combate ao bócio. Em 1984 estudos referentes à relação de nutrição, satisfação sensorial, fortificação e modulação de

sistemas fisiológicos surgiram como conceitos do que em, 1991, também no Japão fosse adotado o termo *Foshu* (*Foods for special health use*) para separá-los dos produtos farmacêuticos. Heashman; Melletin (2001 apud Bianco 2008).

O programa *Foshu* visava à redução de gastos com saúde pública, buscando conter o avanço de crônico-degenerativas. Hoje seu entendimento está em um consenso substancial entre evidências e pesquisadores em relação à dieta e saúde. Também partem da hipótese de nutrientes (ou não nutrientes) apresentarem a capacidade de afetar fatores diversos de risco para doenças. (Bianco, 2008).

Em 1991 foram regulamentados os "Alimentos funcionais ou Nutracêutricos", que são alimentos que contribuem para o aumento da qualidade de vida. (Arabbi, 2001).

Estes são compostos que além da sua importância nutricional básica, possuem também ação metabólica e efeitos fisiológicos que contribuem para o bem-estar, reduzindo o risco de enfermidades. (Arabbi, 2001).

Quadro I – Principais componentes funcionais e alimentos que possuem

Composto	Ação	Alimento que possuem
Isoflavonas	Ação astrogênica (reduz os sintomas da menopausa) e anticâncer.	Soja e Derivados.
Proteínas de soja	Redução dos níveis de colesterol.	Soja e Derivados.
Ácidos Graxos (ômega 3)	Redução do LDL – Colesterol, anti-inflamatórioe essencial para o desenvolvimento do cérebro e retina de recém-nascidos.	Peixes marinhos (sardinha,salmão, atum, anchova, arenque, etc.).
Ácido Linolênico	Anti-inflamatório e estimulante do Sistema imunológico.	Óleo de linhaça, colza, soja, nozes e amêndoas.
Catequinas	Estimulam o sistema imunológico; reduz a incidência de alguns tipos de câncer e reduz o colesterol.	Chá verde, cereais, amora, framboesa, mirtilo, uva roxa e vinho tinto.
Licopeno	Reduz níveis de colesterol e de certos tipos decâncer. Antioxidante.	Tomate e derivados. Goiaba vermelha, pimentão vermelhoe melancia.
Luteína e Zeaxantina	Antioxidantes e protegem contra a degeneração macular.	Folhas verdes (luteína). Pequi e milho (zeaxantina).
Indóis e Isotiocianatos	Indutores de enzimas protetoras contra o câncer.	Couve flor, repolho, brócolis, couve de Bruxelas, rabanete emostarda.
Flavonoides	Antioxidante, vasodilatador, anti-inflamatório e possui atividade anticâncer.	Soja, frutas cítricas, tomate, pimentão, alcachofra e cereja.
Fibras solúveis einsolúveis.	Reduz o risco de câncer de colo e melhora o funcionamento intestinal. As solúveis podem ajudar no controle de glicemia e no tratamentode obesidade, pois dão maior saciedade.	Cereais integrais como aveia,centeio, cevada, farelo de trigo, etc.; leguminosas comosoja, feijão, ervilha, etc.; hortaliças como talos e frutas com cascas.
Probióticos (frutooligossacarídeos, inulina).	Ativam a microflora intestinal favorecendo obom funcionamento do intestino.	Raiz de chicória e batataYacon.
Sulfetos alílicos(alilsulfetos)	Reduzem colesterol, pressão sanguínea, melhora o sistema imunológico e reduz o risco de câncergástrico.	Alho e cebola.
Lignanas	Inibição de tumores hormônio-dependentes.	Linhaça, noz moscada.
Tanino	Antioxidante, antisséptico e vasoconstritor.	Maçã, sorgo, manjericão, manjerona, sálvia, caju e soja.
Estanóis e esteróis vegetais	Reduzem o risco de doenças cardiovasculares.	Óleos vegetais (soja) e de madeiras.
Probióticos – bífidobactérias e lactobactérias.	Favorecem as funções gastrointestinais, reduzindo o risco de constipação e cancer (colón).	Leites fermentados e outros produtos lácteos fermentados.

Fonte: (Mata et al, 2017).

2.1. PROBIÓTICOS

Segundo Schrezenmeir e Vrese (2001), o termo “probiótico” deriva do grego e significa “para a vida” e foi primeiramente utilizado por Lilly e Stillwell, em 1965. Saad (2006) define probiótico como “suplemento alimentar composto de células microbianas vivas, as quais têm efeitos benéficos para o hospedeiro, por melhorar ou manter o equilíbrio microbiano no intestino”. A definição aceita internacionalmente é a de que probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Fao/Who, 2001).

A principal ação de proteção das bactérias probióticas contra infecções é a imunoestimulação não específica do intestino, entretanto as moléculas e os mecanismos envolvidos nesse processo não estão completamente elucidados (Morelli, 2002). O modo de ação dos probióticos é provavelmente mais importante para a prevenção e tratamento de doenças infecciosas do intestino e inflamações crônicas do trato digestivo e partes relacionadas (Oelschlaeger, 2010). Para Raizel et al. (2011), em um adulto saudável, a maioria das bactérias promotoras da saúde na microflora predominante são principalmentedos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, ambos gram positivos.

2.1.1. CÂNCER COLORRETAL E PROBIÓTICOS

Segundo o INCA (2020), a estimativa, para o Brasil, de câncer colorretal entre os anos 2020 e 2022 é de 20.540 casos em homens, o qual é o segundo mais incidente nas regiões Sudeste e Centro-oeste, sem considerar tumores de pele não melanoma; e 20.470 em mulheres, sendo o segundo mais incidente nas regiões Sudeste e Sul e terceiro nas demais regiões.

O cólon é o local mais comum à ocorrência de neoplasias primárias como adenomas e adenocarcinomas, este último sendo o principal dos cânceres colorretais. O câncer colorretal agride o segmento distal do reto e sigmoide, em seguida ceco, cólon ascendente e transverso. Ele surge pela alteração genética das células da mucosa colônica normal e evoluem para pólipos adenomatosos (Silva; Errante, 2016).

A eficácia de origens probióticas em iogurtes estabelecem peptídeos antioxidantes como exercício de erradicação de radicais livres, podendo diminuir o estresse oxidativo no lúmen, dificultando ou protelando o surgimento do cancro (Medeiros; Tavares, 2018).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que a alimentação é protagonista na qualidade de vida das pessoas e os alimentos funcionais são de grande impacto para reduzir o risco de doenças crônicas, em especial o câncer. Ainda há muito que se estudar sobre os mecanismos de ação dessas substâncias presentes nos chamados alimentos funcionais, entretanto os resultados, até omomento, vêm sendo satisfatórios. Portanto, é necessária uma dieta saudável e variada, pois cada elemento fornece substâncias diferentes e importantes à saúde.

No que se refere ao câncer, seja ele de mama, próstata, esôfago ou outro; o tratamento adequado se torna necessário, bem como uma intervenção nutricional para amenizar os efeitosadversos do tratamento e da doença, trazendo qualidade de vida e reduzindo a chance de que contrair novas doenças.

Manter uma alimentação saudável e mais natural possível, junto com uma rotina de exercícios, uma postura positiva, descanso e tratamento adequado trará qualidade de vida eum corpo mais forte, capaz de resistir melhor à doença, ao tratamento e evitando possíveis complicações.

"A construção de um "Eu" saudável necessita de uma complementação harmônica entre a razão e emoção." (O Ilusionista).

REFERÊNCIAS

[1] BIANCO, A.L. **A construção das alegações de saúde para alimentos Funcionais.** Embrapa Informação Tecnológica. 2008, Brasília, DF. 113p. Disponível em < https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/124628/1/sgetexto28.pdf> Acesso em 22/07/2021.

[2] BRAY, F. et al. **Global Cancer statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries**. ACS JOURNALS. Nov/Dez 2018, vol. 68, ed. 6, p. 394-424. Disponível em < https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21492>. Acesso em 21/07/2021.

[3] CARVALHO, J. A. et al. **O Alimento como remédio: Considerações sobre o uso dos alimentos funcionais.** Revista científica do ITPAC volume 6, nº 4, Publicação 1. Outubro de2013, Disponível em < https://assets.unitpac.com.br/arquivos/revista/64/1.pdf> Acesso em 2207 2021. 9p.

[4] FAO/WHO, J. **Health and nutritional properties of probiotics in food including powdermilk with live lactic acid bacteria**. Report,1-4, out.2001.

[5] SAAD SMI. **Probióticos e prebióticos: o estado da arte**. Braz J Pharm Sci. 2006; 42:1-16. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcf/a/T9SMSGKc8Mq37HXJyhSpM3K/abstract/?lang=pt#> Acesso em: 21/07/2021.

[6] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA**. Estimativa 2020: Síntese de Resultados e Comentários.** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/sintese-de-resultados-e-comentarios>. Acesso em:20/07/2021.

[7] MARIANO, G.K. da S; MACEDO F.L.R; FERRARI A. **Alimentos funcionais e nutracêuticos no câncer.** XI Encontro Internacional de Produção Científica. 29 e 30 deoutubro de 2019. 4p. Disponível em <http://rdu.unicesumar.edu.br/bitstream/123456789/3812/1/GRACE%20KELLY%20DA%20 SILVA%20MARIANO.pdf>. Acesso em 22/07/2021.

[8] MEDEIROS, de G K; TAVARES L R. **Probióticos como coadjuvante na prevenção e/ouno tratamento do câncer colorretal.** Revista diálogos em saúde v.1 n.2 julho/dezembro de 2018. Disponível em: <https://periodicos.iesp.edu.br/index.php/dialogosemsaude/article/view/262>. Acesso em 20/07/2021.

[9] MORELLI, L. **Probiotics: clinics and/or nutrition. Digestive and Liver Disease**, v. 34, n.2, p. S8-11, 2002.

[10] OELSCHLAEGER, T. A. **Mechanisms of probiotic actions – A review**. International Journal of Medical Microbiology, v. 300, n. 1, p. 57-62, 2010. Disponível: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1438422109000861>. Acesso em:22/07/2021.

[11] RAIZEL, R. et al. **Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano**. Revista Ciência & Saúde, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, jul./dez.2011. Disponível em: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/index.php/faenfi/article/view/8352>. Acesso em22/07/2021.

[12] SCHREZENMEIR J; VRESE M. **Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching adefinition.** Am J Clin Nutr [periódico na internet]. 2001. Disponível em: <http://www.ajcn.org/cgi/reprint/73/2/361S?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFO RMAT=&fulltext=probiotics+p rebiotics&andorexactfulltext=and&searchid=10885671814 61_1526&stored_search=&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&volume=73&resourcetype=1&journalcod e=ajcn>. Acesso em 21/07/2021> Acesso em 21/07/2021.> Acesso em21/07/2021.Acesso em 21/07/2021.

[13] SILVA, M.; ERRANTE, P. R. **Câncer colorretal: fatores de risco, diagnóstico e tratamento.** Revista UNILUS Ensino e Pesquisa, São Paulo, v. 13, n. 33, p. 133-140, out/dez.2016. Disponível em: <http://revista.unilus.edu.br/index.php/ruep/article/view/765/u2016v13n33e765>. Acesso em 22/07/2021.

[14] SOUZA, T. A. (org.). **ABC do câncer**: **abordagens básicas para o controle do câncer** /Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. 6. ed. Rio de Janeiro: INCA: Ministério da Saúde, 2020. Versão Eletrônica. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/abc-do-cancer-abordagens-basicas-para-o-controle-do-cancer>. Acesso em 20/07/2021.

Capítulo 2

Prebióticos e probióticos: geração de alimentos funcionais

Elienae da Silva Gomes
Ana Caroline Raimundini Aranha
Bruno Rafael Del Rio Vieira
Caroline Crivelaro de Oliveira
Deise Molinari
Dulcicler Nelo Mariano
Emerson Barrios Mogollon
Luís Miguel Trigos Sanchez
Julie Suzan da Silva
Pither Jhoel Javier Sucari
Vinício dos Santos Cardoso
Yesenia Milagros Turpo Mamani

Resumo: O consumo formado por uma alimentação saudável desenvolve-se impulsionados pela alta demanda dos alimentos funcionais, sendo uma estratégia interessante entre os produtos disponíveis, pois, fornecem nutrientes que conferem benefícios à saúde humana quando consumidos adequadamente. Substâncias prebióticas e probióticas são incorporadas como ingredientes a estes alimentos para impulsionar melhorias à saúde do consumidor. Nesse âmbito, o presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica narrativa acerca da temática alimentos prebióticos e probióticos baseado na integração da produção no mercado funcional elucidando os benefícios do seu consumo ao organismo. Os resultados encontrados mostraram uma ampla aplicabilidade no mercado funcional de diferentes produtos alimentícios que são acrescidos de prebióticos, probióticos, ou, de ambos para beneficiar o consumidor. Sendo assim, estes alimentos apresentam melhorias na flora intestinal, propriedades imunológicas, metabólicas, antioxidantes, antibacterianas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, entre outros. Todavia, o tipo de prebiótico, a cepa de escolha do probiótico, o produto alimentício e a quantidade ingerida influenciam diretamente os benefícios ao homem, à vista disso, diferentes produtos foram expostos neste estudo para demonstrar suas vantagens quando consumidos. Portanto, pode-se concluir que incorporar alimentos prebióticos e probióticos é uma boa estratégia a indústria de alimentos para potencializar propriedades benéficas e cada vez mais garantir na vida do consumidor uma alimentação saudável.

Palavras-chave: tecnologia de alimentos, microbiota, saúde intestinal, consumo alimentar.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de alimentos funcionais denota o crescente interesse pelos consumidores de alimentos saudáveis, dado em destaque o potencial dos alimentos prebióticos e probióticos pelo efeito do perfil metabólico significativo para a manutenção da saúde intestinal e na prevenção de doenças (Cunningham *et al.*, 2021a). Diferentes divulgações atestam os efeitos positivos no organismo humano, bem como nas características sensoriais dos alimentos funcionais, fato importante para a aceitação do consumidor (Guimarães *et al.*, 2020).

Deste modo, nos últimos anos, a atenção aos prebióticos e os probióticos permeiam nas áreas científica, de saúde e pública, manifestando previsão de avanços com o aumento em aproximadamente 1,6% por ano de crescimento de prebióticos, enquanto o desempenho da indústria de probióticos estima acréscimo de 7% ao ano (Cunningham *et al.*, 2021a). Além disso, a dedicação evidencia a integração das compreendidas funções dos microrganismos na saúde humana, determinada a partir do crescente número de evidências que impulsionam as aplicações do sistema prebiótico e probiótico como práticas de saúde (Piccioni *et al.*, 2023).

Embora conste uma visão geral dos benefícios oferecidos pelo consumo de prebióticos e probióticos à saúde, ainda há uma incompreensão das suas definições, como suas melhores fontes e ações no organismo humano (Cunningham *et al.*, 2021a). Sua resolução atual corresponde ao mecanismo complexo de ação dos probióticos e prebióticos, além de muitas vezes, possuírem específicas estrutura-função para cepas e compostos. Ou seja, a abordagem de ação depende dos tipos e da viabilidade da espécie, pois possuem mecanismos particulares e únicos para com a interação no ambiente intestinal (Guarner *et al.*, 2023).

Na produção de alimentos, alterações físico-químicas podem estar sujeitas as condições de temperatura, pH e estressores químicos, influenciando assim sua eficiência e atividade no cólon (Cunningham *et al.,* 2021b). Nesse sentido, os avanços acelerados da tecnologia de processamentos de alimentos oferecem uma maior estabilidade prebiótica, enquanto a biotecnologia fornece técnicas de reprodutibilidade que aumentam os fluxos de resultados contínuos, além disso, ambas áreas revelam indicações dietéticas e clínicas (Cunningham *et al.,* 2021b; Verma; Rout, 2022).

Deste modo, são impulsionados a alta demanda dos seletivos substratos da classe de prebióticos, que apresentam potencial não digerível, ou seja, resistente a serem consumidos por microrganismos hospedeiros, e capazes de conferir a proliferação de bactérias intestinais saudáveis, e ao mesmo tempo inibem patógenos (Guimarães *et al.*, 2020). Logo, alguns exemplos de ingredientes funcionais prebióticos são definidos como os carboidratos complexos não digeríveis, sendo encontrados em alimentos vegetais, animais; além disso, atualizações demonstram que os compostos fenólicos, fitoquímicos, e o ácido graxo poliinsaturado linoleico apresentam desempenho à saúde intestinal (Piccioni *et al.*, 2023).

Ainda, são demonstrados como a classe de microrganismos probióticos aqueles que desempenham potencial para se manter com viabilidade para colonizar o intestino. Entretanto, a sua adição como ingrediente funcional agrega em algumas situações a produção de metabólitos (Guimarães *et al*., 2020).

Apoiados ao maior número dos avanços tecnológicos, uma extensa lista de alimentos com atributos funcionais é encontrada setor de bebidas, cárneos, massas, molhos, confeitos,

bem como no setor de lacticínio, em especial, na produção de queijos, leites fermentados, iogurtes e sorvete, entre outros, apresentam grande visibilidade entre os consumidores do setor de alimentos funcionais, pois possui consumo popular, e são reputados carreadores de componentes prebióticos e probióticos devido sua composição nutricional (Cunningham *et al.,* 2021b; Sarwar *et al.*, 2021; Souza *et al*., 2023).

Neste contexto, a partir de uma revisão bibliográfica narrativa o presente estudo tem como objetivo demonstrar a importância da temática dos alimentos prebióticos e probióticos, baseado na integração da produção no mercado funcional, bem como elucidar os benefícios do seu consumo ao organismo humano.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais identificam-se em distintas definições, entretanto, se conhece que além de fornecer nutrientes básicos para o corpo é capaz de oferecer benefícios adicionais à saúde quando consumido regularmente como parte de uma dieta equilibrada. Substâncias naturais, e fontes de alimentos com propriedades fisiológicas positivas se mostram no mercado, incluindo alimentos industrializados com alegações à saúde, que podem ser consumidos diariamente, destinadas a regular ou afetar um sistema do corpo após a ingestão (Ashaolu, 2020).

O uso da dieta para fortalecer certos componentes da flora intestinal é um aspecto popular da ciência alimentar funcional (Guimarães *et al.*, 2020). Neste cenário, o mercado atual vem crescendo seu desenvolvimento para defender os consumidores de alimentos saudáveis, e auxiliar no combate as doenças manifestadas na sociedade em geral, principalmente as doenças crônicas, como a obesidade, câncer, diabetes e problemas cardiovasculares (Ashaolu, 2020; Radford-Smith; Anthony, 2023). Desta forma, os principais ingredientes utilizados na indústria de alimentos são os prebióticos e probióticos, capazes de proporcionam diversos benefícios à saúde (Cunningham *et al.*, 2021a).

As substâncias prebióticas e probióticas podem ser encontradas naturalmente em alimentos integrais, mas também constituem amplamente promovidos por vários fabricantes de alimentos, incluindo os fermentados, iogurtes, sucos, suplementos, e alimentos fortificados (Ballini *et al.*, 2023). Não obstante, um dos desafios ligados à esta área é avistado pela promoção de propostas e ações sustentáveis que exigem o aproveitamento de resíduos originados do desperdício industrial constante. Sabe-se que os subprodutos indicam fontes ricas de componentes bioativos e, podem minimizar problemas ambientais e econômicos (Reuben *et al.*, 2021).

Entretanto, as características dos produtos funcionais exigem uma seleção adequada da sua formulação, pois o seu consumo reflete diretamente nos efeitos proporcionados à saúde humana (Cunningham *et al.*, 2021b). Visto que estes alimentos enriquecem a dieta humana, uma abrangente gama de nutrientes é fornecida em uma mistura de sabor, aroma e textura através dos constituintes bioquímicos das matérias-primas, assim, capazes de valorizar a qualidade nutricional e exercer atividades ao metabolismo (Sarwar *et al.*, 2021).

Assim, o consumo regular de alimentos funcionais com atribuições prebióticas e probióticas associam-se abundantemente à benefícios para a saúde (Cunningham *et al.*,

2021a), elucidados pela manutenção da saúde gastrointestinal, além de estimular o fortalecimento do sistema imunológico, e ainda, principiar uma redução do risco de doenças metabólicas acerca do controle da diabetes tipo II, colesterol, triglicerídeos, e doenças cardiovasculares (Ashaolu, 2020). Do mesmo modo, influencias na saúde cerebral foram evidenciadas, melhorando o equilíbrio emocional e mental em geral (Radford-Smith; Anthony, 2023).

Em suma, estes alimentos se diferenciam pelo mecanismo de ação, uma vez que, ingredientes prebióticos fornecem substratos seletivos para a fermentação e atividade/crescimento de bactérias intestinais benéficas (probióticos), enquanto os probióticos correspondem ao potencial de microrganismos viáveis serem capazes de conferir benefícios à saúde quando consumidos em quantidades adequadas (Guarner *et al.*, 2023). Ambas categorias de alimentos podem ser considerados funcionais, e atuam sinergicamente para promover a saúde intestinal e geral do organismo (Ashaolu, 2020; Ballini *et al.*, 2023).

2.2. ALIMENTOS PREBIÓTICOS

O potencial prebiótico é evidenciado pela capacidade de resistência intacta durante processamento de produção do alimento, devendo resistir à digestão e absorção gastrointestinal, incluindo a matriz de entrega imutável com o potencial de influenciar a interação do prebiótico com o sistema digestivo e suas secreções (Cunningham *et al.*, 2021b). Uma abordagem comum das características estruturais dos alimentos prebióticos é manifestada pela capacidade de influenciar seletivamente o uso do substrato pelos microrganismos, ou seja, a estrutura monossacarídica, grau de polimerização, ramificação, ligações e adição de grupos funcionais ou outras modificações compreendem o potencial prebiótico que o alimento desempenha ao organismo (Cunningham *et al.*, 2021a).

Os prebióticos devido sua descrição de ser um substrato que é seletivamente utilizado por microrganismos hospedeiros para desempenhar atividades ou aumento do número de bactérias saudáveis, motivam intencionalmente pesquisas para identificar novas e adequadas fontes (Antunes *et al.*, 2023). Configuram-se a partir disso, previsões de que toneladas de resíduos de alimentos gerados por ano representam uma fonte rica e sustentável de ingredientes prebióticos (Cunningham *et al.*, 2021a).

O progresso da ciência dos prebióticos busca alcançar essencialmente as funções expressas para a saúde da microbiota intestinal, portanto, o alimento deve seletivamente sugerir um número limitado de colônias de microrganismos, causando assim uma modificação da microflora do hospedeiro (Guimarães *et al.*, 2020). Diante isso, deve se atentar aos efeitos induzidos, como também, na condição da afinidade com os componentes intestinais, pois oferece modificações à mesma entregues pela sua ingestão, dado a natureza da resposta imune do sistema linfoide, que por sua vez podem ter significado para um amplo benefício sistêmico (Ashaolu, 2020).

Efetivamente, ostentam-se uma série de substâncias prebióticas confirmadas dominando o mercado, que sugerem o interesse de estimular um amplo grupo de organismos comensais, e consequentemente certificam-se novos candidatos a compostos prebióticos (Cunningham *et al.*, 2021a). Isso demonstra comumente a sugestão de que os prebióticos sejam classificados pelos carboidratos complexos não digeríveis à base de vegetais, bem como, de animais; entre outras substâncias, como polifenóis, ácidos graxos, aminoácidos,

e outros micronutrientes, que desempenham ação aos microrganismos benéficos à saúde (Piccioni *et al.*, 2023).

Conforme mencionado anteriormente, os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, já predominantemente classificados por carboidratos complexos, formados por estruturas e fontes naturais distintas, sendo dentre eles os mais estudados os galactooligossacarídeos, xilooligossacarídeos, frutooligossacarídeos, mananooligossacarídeos e isomaltooligossacarídeos (Cunningham *et al.*, 2021b). Entretanto, eles compartilham a capacidade de promover a proliferação de bactérias benéficas intestinais, resultando em melhorias nas funções fisiológicas e saúde em geral (Narisetty *et al.,* 2022).

Um estudo anterior revelou que carboidratos derivados do farelo de arroz exercem efeitos modulatórios positivos na microbiota intestinal. Ainda, os autores mencionam que carboidratos desta fonte foram resistentes a condições gastrointestinais simuladas e apresentaram escores positivos de atividade para todas as cepas de *Lactobacillus*, o que positivamente a sugere como uma nova fonte prebiótica (Antunes *et al.*, 2023).

Narisetty *et al.* (2022) recomendam a celulose e oligossacarídeos como misturas ideais para produzir um suplemento prebiótico não digerível, para mais, a transformação de biomassa lignocelulósica em oligossacarídeos é uma área promissora a economia sustentável em conjunto com o mercado prebiótico. Vale ressaltar que o desenvolvimento de prebióticos se concentra em carboidratos, sendo particularmente os oligossacarídeos (Cunningham *et al.*, 2021b). Estes apresentam maior estabilidade em pH baixo e alta temperatura, o que estimula o aumento do número das bactérias do ácido lático e de *Bifidobacterium* (Xie *et al.*, 2023).

Outros exemplos foram descobertos na natureza, sendo marcados os vegetais, grãos, e frutas como candidatas prebióticos, pois na grande maioria possuem fonte de fibras, e oferecem atividade ao metabolismo humano (Cunningham *et al.*, 2021a). Do mesmo modo, alho-poró, cebola, trigo, alho e banana contêm quantidades adequadas de oligofrutose e inulina em sua composição, e desempenham ações prebióticas para o organismo humano, em virtude de serem parcialmente digeridos ou não digeridos pelo trato gastrointestinal, o que favorece a sua fermentação pela microflora intestinal útil (Khan *et al.*, 2023).

Outrossim, a alcachofra, bardana, chicória, farelo de trigo e grãos integrais foram anteriormente declarados em uso como prebióticos para aves (Reuben *et al.*, 2021). Os prebióticos sofrem fermentação pela microflora benéfica no intestino grosso, fornecendo fontes de energia para a bactérias saudáveis. Abordagens prebióticas animais são presentes na indústria pecuária, através do uso de suplementos que ofereçam a modulação e proteção da microbiota intestinal do hospedeiro, incluindo gado, aves e piscicultura. Ainda, os autores mencionam que a dieta se torna um dos principais impulsionadores da saúde intestinal animal, sendo o trigo, soja, e frutas alguns dos vegetais bastante recomendados para a nutrição (Anadón *et al.*, 2019).

De maneira concisa, compreende-se no geral que os prebióticos formalizam um desempenho essencial para com a atividade probiótica, estes quando se apresentam em conjunto são formados alimentos simbióticos de forma sinérgica, oferecendo assim características funcionais, ricos em componentes alimentares conhecidos por seus valores biológicos, além de atender às necessidades nutricionais (Cunningham *et al.*, 2021a).

2.3. ALIMENTOS PROBIÓTICOS

Os probióticos são conhecidos como "microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro se consumidos em quantidades adequadas" (Xie *et al.*, 2023). Portanto, apresentam vasta aplicabilidade sendo uma categoria de destaque dentro dos alimentos funcionais (Vasconscelos *et al.*, 2019). Segundo Xie *et al.* (2023) dentro do mercado de alimentos funcionais um percentual de 70% é representado por alimentos probióticos. Até 2027 estima-se que estes produtos movimentem globalmente em torno de 85,4 bilhões de dólares por ano. Estes fatos são justificados pelos benefícios que os probióticos proporcionam quando entram em contato com a microbiota gastrointestinal humana e o sistema imunológico humano (Guarner *et al.,* 2023).

Em geral, as propriedades benéficas incluem regulação do metabolismo humano risco reduzido ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2, melhorias à tolerância de lactose, alívios em sintomas pertinentes da síndrome do intestino irritável, prevenção de diarreia e redução de doenças gastrointestinais (GROM *et al.*, 2020; Fiocco *et al.*, 2020; Reque; Brandelli, 2021). Um estudo conduzido por Chelladhurai *et al.* (2023) também aponta melhorias relacionadas a saúde mental, além de potenciais efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antibacteriano conferindo assim inúmeras vantagens aos indivíduos que os consomem.

Contudo, para que os benefícios sejam alcançados o número mínimo de bactérias comensais probiótica em qualquer suplemento alimentar vendido deve estar entre 10^6 e 10^7 unidade formadora de colônia (Reque; Brandelli, 2021). Entretanto, dependentemente da cepa e do produto a viabilidade probiótica pode apresentar recomendações distintas, pois possuem mecanismos particulares e únicos para o desempenho no organismo (Guarner, *et al.,* 2023).

Nessa linha de pensamento Fiocco *et al.* (2020) descreve que, algumas propriedades funcionais e metabólicas dos probióticos são afetadas pelos ingredientes e pelas características dos produtos em que são adicionados. Consequentemente, o mesmo probiótico quando incorporado em diferentes matrizes alimentares pode exibir taxas de sobrevivência variada mesmo em condições de armazenamento idênticas. Os autores ainda elucidam que, para atingir as recomendações de produto probiótico um alimento deve conter cepas resistentes aos processamentos exigidos durante a fabricação, bem como deve sobreviver aos ambientes do organismo humano influenciando diretamente a sua funcionalidade benéfica.

De um modo geral, vários gêneros bacterianos podem ter propriedades probióticas, mas, as cepas mais estudadas ao redor do todo mundo são os *Bifidobacterium* e os *Lactobacillus* (Grom *et al.*, 2020). Com relação aos *Bifidobacterium* suas características correlacionam-se a espécies bacterianas estritamente anaeróbica que apresentam características de sobrevivência ótima entre 37 a 41 ºC na faixa de pH próximo ao neutro entre 6,5 a 7,0. Já os *Lactobacillus*, espécies anaerobicamente tolerantes para garantir um ambiente adequado de crescimento e propriedades probióticas suas condições encontram-se em pH ótimo entre 4,5 a 6,4 e temperatura entre 35 a 40 ºC (Xie *et al.*, 2023).

Outros exemplos também podem ser citados, sendo eles cepas pertencentes ao gênero gram-positivo, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcuus*, e, *Leuconostoc* que juntamente com os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* se caracterizam por apresentar resistência a condições adversas e alta capacidade metabólica de produzir ácido lático a partir de carboidratos complexos hidrolisados, tornando-os úteis na fermentação de alimentos (Fiocco *et al.*, 2020).

Logo, é valido dizer que, os prebióticos desempenham um papel fundamental aos microrganismos probióticos, e, quando atuam em conjunto geram alimentos simbióticos possuindo características que melhoram a funcionalidade dos produtos permitindo que bactérias benéficas se multipliquem e colonizem o intestino do indivíduo (Sarwar *et al.* 2021; Grom *et al.*, 2020). Deste modo, os prebióticos não fornecem apenas nutrientes para que os probióticos cresçam, eles também fortalecem sua resistência frente à processos advindos do calor, desidratação, e, outros. Como também protegem o trato intestinal de espécies patógenas, consequentemente, a competição de sobrevivência probiótica é reduzida (Xie *et al.*, 2023).

Sendo assim, fontes de microrganismos probióticos podem ser administradas sob forma de alimentos funcionais, medicamentos, suplementos ou fórmulas alimentares proporcionando uma ampla aplicabilidade dentro da indústria alimentícia e farmacêutica (Reque; Brandelli, 2021). Dentre os produtos mais consumidos estão os lácteos, como iogurtes, queijos, leites fermentados e sorvetes (SOUZA *et al.,* 2023). Além destes, outros alimentos podem ser citados, como, achocolatados, sucos, produtos cárneos, massas, pães, bolos, biscoitos, e, outros (Reque; Brandelli, 2021).

Pimentel *et al.* (2021) em seus achados também apontam matrizes vegetais incorporadas com cepas probióticas acarretando benefícios a saúde, como por exemplo, bebidas produzidas a partir de cereais, arroz, soja, chá verde, kombucha, café, e, leites de soja, amendoim e arroz. Dentre as cepas probióticas mais utilizadas nestas matrizes alimentares estão os *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus coagulans, Bifidobacterium animalis, Lacticaseibacillus paracasei, Bifidobacterium longum e Lacticaseibacillus rhamnosus que conferem efeitos hipocolesterolêmicos, redução nos índices de diabetes mellitus tipo 2, aumento da atividade imunomoduladora, prevenção de doenças coronárias, benefícios anti-inflamatórios, e, muito mais.*

Udayarajan; Mohan; Nisha (2022) descrevem uma bebida de amêndoa utilizando como probióticos as cepas Lactobacillus reuteri e Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, além de inulina como prebiótico, caracterizando o produto como simbiótico. Os autores relatam alta sobrevivência probiótica em torno de 51 % após processamento de digestão in vitro, certamente relacionada com a presença do prebiótico na bebida proposta ampliando os benefícios à saúde do hospedeiro.

Probióticos também são acrescentados alternativamente em matrizes poliméricas comestíveis que são utilizadas no desenvolvimento de embalagens alimentícias. Isto proporciona melhorias a segurança alimentar, pois, os probióticos apresentam efeitos competitivos contra espécies deteriorantes, bem como promovem melhorias a saúde do consumidor devido às suas propriedades probióticas. *Deste modo, são inúmeras possibilidades de produtos que podem ser incorporados com cepas probióticas, contudo, os mecanismos de ação e os benefícios à saúde humana* são variados e devem ser cada vez mais estudados (Reque; Brandelli, 2021).

2.4. APLICAÇÕES ALIMENTARES E BENEFÍCIOS PARA A SAÚDE

Julga-se que no trato gastrointestinal são abrigadas uma população que ultrapassa cem trilhões de células microbianas por grama, de quase duas mil espécies complexas diferentes, que coevoluíram com o organismo hospedeiro (Piccioni *et al.*, 2023). Cada indivíduo tem sua própria carga bacteriana única, ou seja, apresenta-se em perfil próprio de espécie, formada pela identidade da microflora, cujo se deve as transições individuais,

desde a infância, o uso de medicamentos (em realce antibióticos), dieta, e estilo de vida (Ballini *et al.*, 2023).

Além disso, a comunidade celular coopera em muitas reações metabólicas necessárias para a biotransformação de moléculas complexas. Dispondo de um enorme patrimônio enzimático, os substratos (prebióticos) são comumente fermentados pela microbiota saudável (probióticos), levando à formação de ácidos orgânicos, hidrogênio, etanol, succinato, metano, dióxido carbônico; bem como auxilia na absorção de compostos potencialmente bioativos para o hospedeiro (Piccioni *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a Tabela 1 descreve diferentes estudos que designaram o potencial de alimentos integrados à prebióticos e probióticos relacionando-se aos efeitos benéficos ao organismo humano. A partir desta lista de estudos é possível comparar diferentes matrizes alimentícias já estudadas e observar as vantagens que oferecem à saúde e bem-estar do consumidor. Além disso, os autores elucidam diferentes propriedades benéficas proveniente do mesmo substrato e cepa probiótica quando inseridas em matrizes alimentares distintas, mostrando fortemente suas correlações e dependências.

Tabela 1. Estudos de prebióticos e probióticos em diferentes matrizes alimentares

Prebiótico	Fonte alimentar	Probiótico estimulada	Resultados	Fonte
Inulina e oligossacarídeo	Farelo de arroz	*L. acidophilus, L. casei, L. plantarum, e L. rhamnosus*	Estimula seletivas bactérias intestinais benéficas, e oferece a biodisponibilidade de nutrientes, bem como, melhores respostas imunes e inflamatórias	ANTUNES *et al.* (2023)
Xilooligossacarídeo	Pistache	*L. rhamnosus* e *L. plantarum*	Alívio e regularização da microbiota intestinal de ratos diabéticos	*UDAYARAJAN; MOHAN; NISHA (2022)*
Inulina	Bebida fermentada	*L. plantarum*	Auxilia no controle da hiperglicemia; bem como aumenta a biodisponibilidade de minerais, propriedades antioxidante e anti-hipertensiva	BALTHAZAR *et al.* (2019)
Inulina	Chicória	*Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.*	Potencial anticancerígeno	TRIPODO; MANDRACCHIA (2019)
Inulina	Sorvete	*L. plantarum, L. rhamnosus* e *P. acidilactic*	Atividade lipolítica e antioxidante, potencial bacteriogênico e de remover colesterol	OLIVEIRA *et al.* (2021)
Inulina	Barra de cereal	*Bifidobacterium spp.*	Alívio nos sintomas de doenças gastrointestinais	REIMER *et al.* (2020)
Isomaltooligossacarídeos	Bebida destinada para atletas, rica em proteínas	*L. rhamnosus, L. paracasei, L. acidophilus, B. longum, B. animalis subsp. e B. bifidum*	Resistente à digestão do trato gastrointestinal superior, bem como capaz de promover o crescimento de bactérias intestinais benéficas	KUMAR; TISSOPI; MUTTURI (2023)
Oligossacarídeo e dextrana	Suco de laranja	*L. ruminis* e *B. adolescenteis*	Melhora a composição e diversidade da microbiota intestinal	LEITE *et al.* (2023)
Pectina	Melancia, banana, limão, goiaba	*L. acidophilus, L. casei* e *B. bifidum*	Promovem o crescimento bacteriano probiótica, e aumentam a resistência sob as condições gastrointestinais	KHAN *et al.* (2023)
Arabinoxilano	Centeio e trigo	*B. longum*	Protege do crescimento de patógenos intestinais e colabora à formação de ácidos graxos de cadeia curta no intestino	WANG *et al.* (2020)
Galactooligossacarídeos	Leite	*Bifidobacterium, Lactobacillus spp* e *P. acidilactici*	Inibem o crescimento e a adesão de bactérias patogênicas, aliviam doenças (gastrointestinais, neurológicas, metabólicas e alérgicas)	WANG *et al.* (2023) b
Proteina vegetal	Mix (soja, trigo, ervilha)	*L. casei*	Atividade inibitória contra patógenos, e a capacidade de sobreviver em condições adversas da digestão	SAVEDBOWORN *et al.* (2020)
Inulina, pectina, e fitoquímicos	Iogurte simbiótico com uso de extrato de fruta	*B. lactis* e *L. acidophilus*	Melhora na regulação da glicose no sangue, como também, os níveis de ácidos graxos de cadeia curta, e ameniza os danos hepáticos e renais	BAN *et al.* (2020)
Oligossacarídeos	Fórmula infantil	*B. lactis*	Redução de pneumonia, redução de infecções do trato respiratório agudas graves	CHAN *et al.* (2020)
Mananooligossacarídeo	Alimentação animal	*Bacillus subtilis*	Diminuição da diarréia causada por doença infecciosa (*Cryptosporidium)*	LUCEY *et al.* (2021)
Isomaltooligossacarídeo	Pêssego desidratado	*Bifidobacterium spp.*	Indicado para prevenção de cáries	WANG *et al.* (2023) a

Fonte: Autora (2023).

A partir da Tabela 1 observou-se uma abundante lista de produtos considerados alimentos prebióticos e probióticos, onde os achados descritos apontam que os benéficos à saúde humana estão diretamente relacionados ao tipo de prebiótico e probiótico utilizado, bem como a matriz alimentar de escolha. Portanto, o desempenho das cepas bacterianas é influenciado particularmente pelo alimento carreador e seus componentes, isto é, as propriedades intrínsecas de promoção da saúde das diferentes matrizes podem ser exploradas e melhoradas com sucesso (De Bellis; Sisto; Lavermicocca, 2021).

A composição dos alimentos prebióticos se qualifica pela ação substrato para as bactérias benéficas intestinais, que ao não serem hidrolisadas totalmente pelo metabolismo, são fermentadas por bactérias probióticas servindo de combustível para seu crescimento e atividades (Ballini *et al.*, 2023). Logo, os alimentos probióticos conferem benefícios à saúde quando consumidos em quantidades adequadas, e ajudam a repor as bactérias benéficas intestinais, promovendo diversos efeitos positivos, como por exemplo, melhora na digestão, fortalecimento do sistema imunológico e redução do risco de doenças intestinais (Xie *et al.*, 2023; Guarner *et al.*, 2023).

Ainda, sugere-se que o efeito sinérgico pode ser mais poderoso do que o efeito individual de cada componente, uma vez que, vale ressaltar que, a ação das atividades prebióticos e probióticos não se limitam apenas ao intestino, estudos têm demonstrado que essa combinação pode ter efeitos benéficos em outros sistemas do corpo humano e animal, como o sistema imunológico, o sistema cardiovascular e até mesmo o sistema nervoso (Dahiya; Nigam, 2022).

Portanto, recomenda-se que, ao adotar uma dieta que inclua alimentos prebióticos e probióticos a consulta de um profissional de saúde para obter orientações adequadas às suas necessidades individuais e investigar as individualidades do organismo é fundamental (Cunningham *et al.*, 2021a). Essas informações ressaltam a importância de se inserir cuidadosamente diferentes produtos funcionais à dieta humana para assegurar inúmeros os efeitos benéficos ao organismo humano. Sendo assim, a escolha correta dos produtos alimentícios quando ingeridos em quantidades adequadas levam a melhorar a saúde e bem estar dos indivíduos, visto que, promove uma microbiota saudável, fortalece o sistema imunológico contribuindo para manutenção e prevenção de doenças (Palai *et al.*, 2020).

3. CONCLUSÃO

De acordo com os achados inseridos neste estudo, os alimentos funcionais com atividades prebióticas e probióticas têm demonstrado distintos benefícios à saúde humana, especialmente no que diz respeito à saúde gastrointestinal, imunológica e metabólica. Portanto, é possível concluir que, alimentos que possuem prebióticos e probióticos podem contribuir para a promoção de um microbiota intestinal saudável, fortalecimento do sistema imunológico, regulação do metabolismo e até mesmo melhorias a saúde mental. No entanto, a quantidade recomendada para a ingestão pode ser distinta entre os alimentos, visto que, os efeitos benéficos são diretamente correlacionados ao tipo de prebiótico e probiótico inserido na matriz alimentar.

Como evidenciado neste estudo, diferentes substratos e cepas bacterianas são inseridos atualmente em diversos produtos alimentares, e, para sua inserção na dieta humana torna-se necessário a busca por orientações profissionais visando obter uma dieta equilibrada e obter os melhores resultados em termos de saúde e bem-estar. Contudo,

mais pesquisas são necessárias para compreender completamente os mecanismos de ação e os efeitos desses alimentos prebióticos, próbióticos, ou, ambos no organismo humano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ.

REFERÊNCIAS

[1] ANADÓN, Arturo et al. Prebiotics and probiotics in feed and animal health. In: GUPTA, Ramesh C.; SRIVASTAVA, Ajay; LALL, Rajiv. **Nutraceuticals in Veterinary Medicine**. Switzerland: Springer Cham, 2019, v. 1, cap. 10, p. 261-285.

[2] ANTUNES, Laura Luisi et al. Prebiotic potential of carbohydrates from defatted rice bran–Effect of physical extraction methods. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134539, 2023.

[3] ASHAOLU, Tolulope Joshua. Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, n. 1, p. 110625, 2020.

[4] BALLINI, Andrea et al. About Functional Foods: The Probiotics and Prebiotics State of Art. **Antibiotics**, v. 12, n. 4, p. 635, 2023.

[5] BALTHAZAR, C. F. et al. Novel milk–juice beverage with fermented sheep milk and strawberry (Fragaria× ananassa): Nutritional and functional characterization. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 10724-10736, 2019.

[6] BAN, Qingfeng et al. Effects of a synbiotic yogurt using monk fruit extract as sweetener on glucose regulation and gut microbiota in rats with type 2 diabetes mellitus. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 4, p. 2956-2968, 2020.

[7] CHAN, Carty KY et al. Preventing respiratory tract infections by synbiotic interventions: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Advances in Nutrition**, v. 11, n. 4, p. 979-988, 2020.

[8] CHELLADHURAI, K. et al. Lactobacillus helveticus: Health effects, current applications, and future trends in dairy fermentation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 136, n. 2023, p. 159–168, 2023.

[9] CUNNINGHAM, Marla et al. Applying probiotics and prebiotics in new delivery formats–is the clinical evidence transferable?. **Trends in Food Science & Technology**, v. 112, p. 495-506, 2021. b

[10] CUNNINGHAM, Marla et al. Shaping the future of probiotics and prebiotics. **Trends in microbiology**, v. 29, n. 8, p. 667-685, 2021. a

[11] DAHIYA, Divakar; NIGAM, Poonam Singh. Probiotics, prebiotics, synbiotics, and fermented foods as potential biotics in nutrition improving health via microbiome-gut-brain axis. **Fermentation**, v. 8, n. 7, p. 303, 2022.

[12] DE BELLIS, Palmira; SISTO, Angelo; LAVERMICOCCA, Paola. Probiotic bacteria and plant-based matrices: An association with improved health-promoting features. **Journal of Functional Foods**, v. 87, n. 1, p. 104821, 2021.

[13] FIOCCO, D. et al. How probiotics face food stress: They get by with a little help. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 9, p. 1552–1580, 2020.

[14] GROM, L. C. et al. Probiotic dairy foods and postprandial glycemia: A mini-review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 101, n. 1, p. 165–171, 2020.

[15] GUARNER, F. *et al.* **Probiotics and prebiotics**. Milwaukee: Guidelines - World Gastroenterology Organisation Global, 2023. Disponível em: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-english-

2023.pdf>. Acesso em: 21 mai. 2023.

[16] GUIMARÃES, Jonas T. et al. Impact of probiotics and prebiotics on food texture. **Current Opinion in Food Science**, v. 33, p. 38-44, 2020.

[17] KHAN, Fasiha Fayyaz et al. Recent innovations in non-dairy prebiotics and probiotics: Physiological potential, applications, and characterization. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 15, n. 2, p. 239-263, 2023.

[18] KUMAR, Sandeep; TISSOPI, Trisha; MUTTURI, Sarma. The successful synthesis of industrial isomaltooligosaccharides lies in the use of transglycosylating α-glucosidases: A review. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, p. 100325, 2023.

[19] LEITE, Ana Karoline Ferreira et al. Impact of orange juice containing potentially prebiotic ingredients on human gut microbiota composition and its metabolites. **Food Chemistry**, v. 405, p. 134706, 2023.

[20] LUCEY, P. M. et al. Effects of mannan-oligosaccharide and Bacillus subtilis supplementation to preweaning Holstein dairy heifers on body weight gain, diarrhea, and shedding of fecal pathogens. **Journal of dairy science**, v. 104, n. 4, p. 4290-4302, 2021.

[21] NARISETTY, Vivek et al. Valorization of renewable resources to functional oligosaccharides: Recent trends and future prospective. **Bioresource Technology**, v. 346, n.1, p. 126590, 2022.

[22] OLIVEIRA, Anay Priscilla David et al. Symbiotic goat milk ice cream with umbu fortified with autochthonous goat cheese lactic acid bacteria. **LWT**, v. 141, p. 110888, 2021.

[23] PALAI, Santwana et al. Prebiotics, probiotics, synbiotics and its importance in the management of diseases. **Functional Foods and Nutraceuticals: Bioactive Components, Formulations and Innovations**, v. 2020, n. 1, p. 173-196, 2020.

[24] PICCIONI, Andrea et al. How Do Diet Patterns, Single Foods, Prebiotics and Probiotics Impact Gut Microbiota?. **Microbiology Research**, v. 14, n. 1, p. 390-408, 2023.

[25] PIMENTEL, T. C. et al. Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. **Food Research International**, v. 140, n. 2021, p. 110033–110058, 2021.

[26] RADFORD-SMITH, Daniel E.; ANTHONY, Daniel C. Prebiotic and Probiotic Modulation of the Microbiota–Gut–Brain Axis in Depression. **Nutrients**, v. 15, n. 8, p. 1880, 2023.

[27] REIMER, Raylene A. et al. Effect of chicory inulin-type fructan–containing snack bars on the human gut microbiota in low dietary fiber consumers in a randomized crossover trial. **The American Journal of clinical nutrition**, v. 111, n. 6, p. 1286-1296, 2020.

[28] REQUE, P. M.; BRANDELLI, A. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 114, n. 2021, p. 1–10, 2021.

[29] REUBEN, Rine Christopher et al. Prebiotics, probiotics and postbiotics for sustainable poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v. 77, n. 4, p. 825-882, 2021.

[30] SARWAR, Abid et al. Characterization of synbiotic ice cream made with probiotic yeast Saccharomyces boulardii CNCM I-745 in combination with inulin. **LWT**, v. 141, p. 110910, 2021.

[31] SAVEDBOWORN, Wanticha et al. Potential of protein-prebiotic as protective matrices on the storage stability of vacuum-dried probiotic Lactobacillus casei. **LWT**, v. 131, p. 109578, 2020.

[32] SOUZA, R. C. et al. Lacticaseibacillus casei improves textural, functional, and sensory properties and phenolics' bioaccessibility of frozen desserts prepared using water-soluble extract of rice by-product and Spirulina platensis. **LWT**, v. 1, n. 2023, p. 114794–114804, 2023.

[33] TRIPODO, Giuseppe; MANDRACCHIA, Delia. Inulin as a multifaceted (active) substance and its chemical functionalization: From plant extraction to applications in pharmacy, cosmetics and food. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 141, n. 1, p. 21-36, 2019.

[34] UDAYARAJAN, C. T.; MOHAN, K.; NISHA, P. Tree nuts: Treasure mine for prebiotic and probiotic dairy free vegan products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 124, n. 2022, p. 208–218, 2022.

[35] VASCONCELOS, F. M. et al. Probiotic Prato cheese attenuates cigarette smoke-induced injuries in mice. **Food Research International**, v. 123, n. 2019, p. 697–703, 2019.

[36] VERMA, Mahima; ROUT, Pramod Kumar. Probiotics: Promising Opportunity for Future Functional Foods. In: KUMAR, Ajay; PATRUNI, Kiran; SINGH, Vijai. **Recent Advances in Food Biotechnology**. Singapore: Springer Nature, 2022, v. 1, cap. 5, p. 75-96.

[37] WANG, Fengzhao et al. Effect of osmotic dehydration with different osmosis agents on water status, texture properties, sugars, and total carotenoid of dehydrated yellow peach slices. **Journal of Food Science**, v. 88, n. 1, p. 109-118, 2023. a

[38] WANG, Jing et al. Cereal-derived arabinoxylans: Structural features and structure–activity correlations. **Trends in Food Science & Technology**, v. 96, p. 157-165, 2020.

[39] WANG, Ke et al. Galactooligosaccharides: Synthesis, metabolism, bioactivities and food applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-17, 2023. b

[40] XIE, A. et al. Polysaccharides, proteins, and their complex as microencapsulation carriers for delivery of probiotics: A review on carrier types and encapsulation techniques. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 242, n. 2023, p. 124784–124802, 2023.

Capítulo 3

Scaffolds inovadores para estruturação de carne cultivada: engenharia de estruturas biológicas para a alimentação do futuro

Creciana Maria Endres
Rubieli Carla Frezza Zeferino
Sthéfani da Cunha
Joseane Cristina Bassani
Yara Munike Pereira Truppel
Anderson de Carvalho Fernandes
Micheli Zanetti

Resumo: A carne cultivada é uma inovação promissora na produção de proteínas de origem animal sem a necessidade de abater animais, com o potencial de mitigar os impactos ambientais da pecuária tradicional, como as emissões de gases de efeito estufa e o uso excessivo de água e terra. Esse método envolve o cultivo de células musculares em condições laboratoriais controladas, e um dos principais desafios para sua viabilização em larga escala é a estruturação adequada do tecido muscular. Nesse contexto, os scaffolds desempenham um papel essencial, fornecendo uma estrutura tridimensional que imita a matriz extracelular natural dos tecidos animais, promovendo a adesão, proliferação e diferenciação celular. Esses suportes precisam ser biocompatíveis, biodegradáveis e capazes de replicar as propriedades sensoriais e mecânicas da carne tradicional. A escolha de materiais para scaffolds, que inclui desde biomateriais naturais como celulose bacteriana e alginatos até polímeros sintéticos, é um fator determinante para o sucesso da estruturação da carne cultivada. Inovações como a bioimpressão 3D e o uso de técnicas de microfabricação estão sendo aplicadas para criar scaffolds mais complexos e personalizados, permitindo a formação de tecidos que imitam a textura, marmoreio e sabor da carne convencional. Ao superar esses desafios tecnológicos, a carne cultivada tem o potencial de transformar a indústria alimentícia, oferecendo uma solução sustentável e ética para a crescente demanda global por proteínas.

Palavras-chave: carne cultivada, *scaffolds*, biomateriais, bioimpressão 3D, sustentabilidade.

1. INTRODUÇÃO

A carne cultivada está relacionada à produção de carne sem a necessidade de abate de animais. Este método considerado inovador utiliza a cultura de células musculares, geralmente obtidas a partir de animais, que são cultivadas em condições controladas em laboratórios. O conceito de carne cultivada visa não apenas atender à crescente demanda por proteínas de origem animal, mas também oferecer uma alternativa sustentável que minimize os impactos ambientais associados à pecuária tradicional, como emissões de gases de efeito estufa, uso excessivo de água e degradação de terras (Bryant, 2020). Porém, para a sua produção existem alguns desafios, como a estruturação, e, para isso, são utilizados os scaffolds, que desempenham um papel fundamental na estruturação da carne cultivada, pois oferecem suporte físico para o crescimento e organização celular. Esses suportes tridimensionais são projetados para imitar a matriz extracelular encontrada nos tecidos musculares naturais, promovendo a adesão celular e a formação de estruturas que replicam a textura e a consistência da carne convencional (Post, 2012; Jiang; Zhang; He, 2020). A engenharia de scaffolds é crucial, pois a organização espacial das células influencia diretamente as propriedades mecânicas e sensoriais da carne cultivada (Ben-Arye; Levenberg, 2019).

Este capítulo tem como objetivo explorar a aplicação de scaffolds na produção de carne cultivada, discutindo suas propriedades, os métodos tecnológicos empregados em sua produção, os desafios e oportunidades que surgem na indústria de alimentos. Pesquisas recentes têm se concentrado em desenvolver materiais biocompatíveis que não apenas suportem as células musculares, mas também ofereçam um microambiente que promova a sua diferenciação em tecidos musculares funcionais e que apresentam boa biocompatibilidade (Moroni et al., 2018). Entre os materiais em destaque estão a celulose bacteriana, biocompostos de microalgas, alginatos e polímeros sintéticos, que têm mostrado potencial na criação de scaffolds que se assemelham mais à carne tradicional (Jiang; Zhang; He, 2020).

Além disso, técnicas avançadas de impressão 3D têm permitido a personalização de *scaffolds* para atender às especificidades dos produtos desejados, com ênfase na replicação de características como o marmoreio que simula a gordura presente entre as fibras da carne e na textura (Bhat; Kumar; Fayaz, 2015). No entanto, a indústria enfrenta desafios significativos, incluindo a escalabilidade da produção e a aceitação do consumidor, que são críticos para o sucesso comercial da carne cultivada. Assim, o desenvolvimento de *scaffolds* que atendam tanto às necessidades funcionais quanto às expectativas do consumidor representa uma área de pesquisa promissora.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. O PAPEL DOS *SCAFFOLDS* NA ESTRUTURAÇÃO DE CARNE CULTIVADA

A estruturação da carne cultivada depende fortemente do uso de *scaffolds*, que desempenham um papel crítico ao fornecer suporte físico para a adesão,proliferação e organização de células musculares, adiposas e endoteliais. Esses suportes são projetados para imitar a matriz extracelular (MEC) natural, que é fundamental para a formação de tecidos musculares adequados. A MEC, composta por uma combinação de proteínas, glicoproteínas e polissacarídeos, fornece um microambiente que não apenas suporta a adesão celular, mas também regula a comunicação celular e a diferenciação (Han et al., 2020). Ao replicar as propriedades mecânicas e bioquímicas da MEC, os *scaffolds* facilitam

a organização celular em estruturas que mimetizam a textura e a funcionalidade da carne convencional (Kirsch et al., 2021).

Os scaffolds destinados à carne cultivada devem atender a certos requisitos essenciais para garantir seu sucesso. Entre as propriedades mais importantes estão a biocompatibilidade, que assegura que os materiais não causem reações adversas ao serem implantados em um ambiente biológico, e a biodegradabilidade, permitindo que o scaffold se degrade após o uso, liberando as células e minimizando resíduos (Kumar; Sood; Han, 2023). A textura semelhante à carne é crucial, pois impacta na aceitação do produto final pelo consumidor, e a capacidade de suportar diferentes tipos celulares, incluindo células musculares, adiposas e endoteliais, é necessária para a formação de um tecido muscular complexo e funcional.

Ao comparar os scaffolds utilizados na carne cultivada com aqueles empregados na bioengenharia de tecidos médicos, há tanto similaridades quanto diferenças notáveis. Ambos os tipos de scaffolds compartilham a necessidade de proporcionar suporte físico e bioquímico para as células. No entanto, enquanto os scaffolds para engenharia de tecidos médicos frequentemente se concentram na regeneração de órgãos e tecidos danificados, os scaffolds para carne cultivada devem atender a requisitos específicos de textura e palatabilidade, que são essenciais para a aceitação do produto final no mercado. Além disso, os scaffolds na engenharia de tecidos podem necessitar de propriedades mecânicas superiores para suportar forças fisiológicas em locais específicos, enquanto os scaffolds de carne cultivada devem ser otimizados para o cultivo em biorreatores com condições controladas (Denes et al., 2019). Atualmente, pesquisas estão sendo realizadas a fim de compreender o desenvolvimento de scaffolds mais eficazes e adaptáveis para a carne cultivada, explorando novos materiais e técnicas de fabricação, como impressão 3D e eletrofiação, que oferecem a possibilidade de personalizar a microestrutura dos scaffolds para melhor atender às necessidades do cultivo celular (Good Food Institute, 2022).

2.2. MATERIAIS PARA *SCAFFOLDS* NA PRODUÇÃO DE CARNE CULTIVADA

2.2.1. BIOMATERIAIS NATURAIS

Os biomateriais naturais, como colágeno, gelatina, celulose bacteriana e algas, têm ganhado crescente destaque na criação de scaffolds para carne cultivada devido à sua compatibilidade com o crescimento celular e suas propriedades benéficas para a formação de tecidos musculares e adiposos. O colágeno, uma proteína estrutural abundante nos tecidos animais, é amplamente utilizado em scaffolds devido à sua excelente biocompatibilidade e capacidade de suportar a adesão e proliferação celular. A gelatina, derivada do colágeno, também é empregada como um material de scaffold, oferecendo uma alternativa mais acessível e flexível. Estudos demonstram que scaffolds à base de colágeno e gelatina promovem a formação de fibras musculares e tecido adiposo, imitando a matriz extracelular natural (Firdous et al., 2020; Khalid et al., 2017).

A celulose bacteriana (CB) é um biopolímero produzido por várias espécies de bactérias, sendo Gluconacetobacter xylinus uma das mais estudadas. Diferentemente da celulose vegetal, a celulose bacteriana é caracterizada por uma estrutura extremamente pura e altamente porosa, o que a torna um material promissor para diversas aplicações, incluindo engenharia de tecidos, medicina regenerativa e produção de alimentos. A celulose bacteriana possui uma estrutura fibrilar altamente organizada, composta por

microfibrilas que formam uma rede tridimensional. Essa estrutura proporciona alta resistência mecânica e excelente capacidade de retenção de água (Utoiu et al., 2024).

A CB é biocompatível, o que significa que não provoca reações adversas quando em contato com tecidos vivos. Além disso, é biodegradável, tornando-se uma alternativa sustentável aos materiais sintéticos. Propriedades antimicrobianas: estudos mostram que a celulose bacteriana possui propriedades antimicrobianas que podem ajudar a prevenir contaminações em ambientes de cultivo celular. A CB pode reter grandes quantidades de água, o que favorece a migração celular e a vascularização em *scaffolds* para engenharia de tecidos (Raut et al., 2023). Além disso, a celulose bacteriana (CB) apresenta diversas aplicações, como sua utilização como scaffold para a cultura de células devido à sua estrutura porosa e capacidade de suportar o crescimento celular (Sulaeva et al., 2015). Pesquisas demonstraram que a CB pode promover a diferenciação de células em tecidos musculares e adiposos, sendo uma alternativa viável para a produção de carne cultivada. Na medicina regenerativa, a CB é explorada em aplicações como curativos para feridas e suporte para regeneração de tecidos, devido à sua biocompatibilidade e propriedades de cicatrização (HE et al., 2021). A celulose bacteriana também é utilizada como agente espessante e estabilizante em produtos alimentícios. Sua capacidade de formar géis e sua textura única a tornam um aditivo valioso na formulação de alimentos.

A CB pode ser combinada com outros materiais, como nanopartículas, para criar nanocompósitos com propriedades mecânicas e funcionais melhoradas, aplicáveis em diversas áreas, desde embalagens até biomedicina (Torres et al., 2019). Pode-se dizer que a celulose bacteriana apresenta um potencial significativo em diversas aplicações devido às suas propriedades únicas. Sua utilização em engenharia de tecidos e medicina regenerativa é especialmente promissora, contribuindo para o desenvolvimento de soluções sustentáveis e eficazes em saúde e alimentação (Meng et al., 2023). Polímeros derivados de algas, como ágar e alginato, têm sido explorados na criação de scaffolds devido às suas propriedades gelificantes e biodegradáveis, fornecendo suporte estrutural e facilitando a entrega de nutrientes às células em crescimento (Osório et al., 2021).

2.2.2. BIOMATERIAIS SINTÉTICOS E POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros sintéticos, como o ácido poliláctico (PLA) e o poli (caprolactona) (PCL), têm sido utilizados na fabricação de *scaffolds* para carne cultivada, pois podem ser projetados para serem biodegradáveis após a formação do tecido, minimizando a geração de resíduos indesejáveis. O PLA é um biopolímero amplamente utilizado devido à sua biocompatibilidade e facilidade de processamento. Ele proporciona um ambiente favorável para a adesão celular e pode ser moldado de várias formas (Wu et al., 2024). O PCL, por sua vez, oferece uma taxa de degradação mais lenta, permitindo que o tecido cultivado se desenvolva antes da degradação do *scaffold*. No entanto, a comestibilidade desses polímeros é uma limitação, e a textura final da carne cultivada pode ser influenciada pela escolha do material (Bomkamp et al., 2022).

2.2.3. MATERIAIS COMESTÍVEIS E FUNCIONAIS

O desenvolvimento de *scaffolds* comestíveis que não precisam ser removidos após a formação da carne é uma área promissora na produção de carne cultivada. Materiais como hidrogéis comestíveis à base de algas ou fibras vegetais podem ser utilizados para criar *scaffolds* que se integram à carne final. Os hidrogéis à base de algas, como aqueles feitos

de alginato, são capazes de formar uma rede tridimensional que suporta o crescimento celular enquanto é consumido junto com a carne. Esses materiais podem adicionar valor nutricional e funcional à carne cultivada, além de melhorar a textura (Maatz, et al 2022). A incorporação de materiais funcionais, como ingredientes que conferem sabor e nutrientes, pode enriquecer a experiência sensorial do consumidor. Por exemplo, a adição de proteínas vegetais ou extratos de ervas pode não apenas melhorar o sabor, mas também aumentar o conteúdo nutricional da carne cultivada (Bhat; Kumar; Fayaz, 2015).

Biocompostos derivados de microalgas, como proteínas, lipídios e pigmentos, têm emergido como uma solução multifuncional que vai além da estruturação dos *scaffolds* para carne cultivada. As proteínas de microalgas desempenham um papel importante na bioatividade dos *scaffolds*, contribuindo na adesão celular e na proliferação de células musculares e os lipídios não só contribuem para a estrutura dos scaffolds, mas também simulam o perfil nutricional encontrado na carne animal, melhorando o valor nutricional da carne cultivada. Já os pigmentos como os carotenoides, além de sua função antioxidante, podem influenciar a coloração e a estabilidade dos tecidos, aprimorando as propriedades sensoriais do produto final. Estudos têm destacado que a combinação de biomateriais de microalgas com outras abordagens biotecnológicas é promissora para desenvolver soluções mais sustentáveis e funcionais na produção de carne cultivada (Orejuela-Escobar et al., 2021; Maltsev et al., 2021).

Em combinação com biopolímeros como os alginatos e carragenanas, esses biocompostos permitem a criação de *scaffolds* tridimensionais com propriedades físicas, mecânicas e bioquímicas ajustáveis, imitando as características da carne tradicional e favorecendo sua produção em escala comercial, além de promover maior sustentabilidade.

2.3. TÉCNICAS DE PRODUÇÃO DE *SCAFFOLDS* PARA CARNE CULTIVADA

2.3.1. IMPRESSÃO 3D DE *SCAFFOLDS* COMESTÍVEIS

A bioimpressão 3D é uma tecnologia emergente que permite a criação de *scaffolds* com estruturas complexas, replicando a arquitetura fibrosa da carne tradicional. Essa técnica utiliza materiais biocompatíveis, como celulose bacteriana e gelatina, para imprimir camadas de células e matriz extracelular, formando *scaffolds* que imitam a textura e a composição da carne. A bioimpressão 3D envolve a deposição de células e biomateriais em camadas para criar uma estrutura tridimensional (HU et al., 2022). Este método permite a personalização da arquitetura do *scaffold*, podendo incorporar diferentes tipos de células, como musculares, adiposas e vasculares, que são essenciais para a formação de carne cultivada.

Estudos demonstraram que *scaffolds* impressos em 3D podem acomodar células musculares e adiposas, resultando em estruturas que promovem a formação de tecido muscular com características similares à carne convencional. Além disso, a inclusão de células vasculares nos *scaffolds* pode melhorar a vascularização do tecido cultivado, aumentando sua viabilidade e funcionalidade (Zhang, et al 2020).

2.3.2. TÉCNICAS DE MICROFABRICAÇÃO

As técnicas de microfabricação, como eletrofiação e litografia suave, são fundamentais para a criação de *scaffolds* com microestruturas precisas que orientam o crescimento celular. Um exemplo é a técnica de eletrofiação que utiliza um campo elétrico para criar

nanofibras a partir de soluções poliméricas, resultando em *scaffolds* com alta área de superfície e porosidade. A eletrofiação permite a produção de *scaffolds* que imitam a matriz extracelular, favorecendo a adesão e o crescimento celular. Já a litografia suave permite a produção de estruturas em escala micrométrica, controlando a topografia do scaffold. Estudos demonstram que *scaffolds* fabricados por litografia suave podem direcionar a orientação celular e promover a formação de tecidos com características específicas, como textura e densidade (Zulkifli et al., 2023; Jun et al., 2018).

2.3.3. AUTO-AGREGAÇÃO CELULAR EM *SCAFFOLDS* NATURAIS

A auto-agregação celular é um fenômeno observado em *scaffolds* naturais, onde células cultivadas formam auto-agregados, imitando o crescimento de tecidos animais. A auto-agregação celular ocorre quando células em cultivo se agregam espontaneamente devido a interações celulares e à presença de sinais bioquímicos. Em *scaffolds* naturais, como aqueles feitos de colágeno ou celulose bacteriana, as células encontram um ambiente favorável para formar estruturas tridimensionais. A capacidade de auto-agregação é crucial para a criação de carne cultivada, pois permite que as células desenvolvam características funcionais semelhantes às do tecido muscular natural, como a formação de fibras musculares e a expressão de proteínas específicas (Narayanan et al., 2023; Raut et al., 2023).

2.3.4. USO DE BIORREATORES NA ESTRUTURAÇÃO DE CARNE CULTIVADA

Os biorreatores desempenham um papel vital na produção de carne cultivada, promovendo a proliferação celular eficiente dentro dos *scaffolds*. Os biorreatores proporcionam um ambiente controlado que simula as condições naturais do corpo animal, favorecendo a oxigenação, nutrição e remoção de resíduos. Isso é essencial para a produção em escala de carne cultivada, garantindo que as células possam crescer e se diferenciar adequadamente (Narayanan et al., 2023). Existem diferentes tipos de biorreatores, como os de perfusão e agitação, que podem ser adaptados para suportar a cultura de células em *scaffolds*. Estudos indicam que o uso de biorreatores de perfusão pode aumentar a densidade celular e a viabilidade do tecido cultivado (Hanga et al., 2021).

As técnicas de produção de *scaffolds* para carne cultivada são diversas e cada uma delas oferece vantagens únicas. A combinação de bioimpressão 3D, microfabricação e uso de biorreatores é fundamental para o desenvolvimento de carne cultivada com características sensoriais e nutricionais adequadas, atendendo à crescente demanda por alternativas sustentáveis à carne convencional.

2.4. DESAFIOS NA ESTRUTURAÇÃO DE CARNE CULTIVADA COM *SCAFFOLDS*

2.4.1. REPLICAÇÃO DA TEXTURA E ESTRUTURA DA CARNE TRADICIONAL

Um dos principais desafios na produção de carne cultivada é replicar a textura e a estrutura da carne tradicional, que inclui a complexa organização de fibras musculares e gordura intramuscular. A textura da carne é um fator crítico na aceitação do consumidor. *Scaffolds* que não conseguem reproduzir adequadamente as propriedades mecânicas e a organização estrutural da carne podem resultar em produtos que não atendem às expectativas dos consumidores. Estudos indicam que a textura da carne é influenciada

pela composição e disposição das fibras musculares, além da presença de gordura intramuscular, que proporciona suculência e palatabilidade (Macqueen et al., 2019).

A criação de *scaffolds* que mimetizem a arquitetura das fibras musculares é fundamental para o desenvolvimento de carne cultivada. A disposição correta das fibras pode impactar a capacidade das células musculares de se organizarem em estruturas funcionais, influenciando diretamente as propriedades sensoriais do produto final (Kumar et al., 2023). A vascularização é crucial para garantir a nutrição e a oxigenação das células no interior dos *scaffolds*, especialmente em estruturas mais espessas.

A ausência de uma rede vascular eficaz dentro dos *scaffolds* representa um dos maiores desafios na produção de carne cultivada. Sem vascularização adequada, as células no interior dos *scaffolds* podem não receber nutrientes suficientes, levando à necrose celular. Modelos de *scaffolds* que não possuem canais vasculares limitam a difusão de oxigênio e nutrientes, resultando em áreas com baixa viabilidade celular. Estratégias para melhorar a vascularização: a incorporação de células endoteliais nos *scaffolds* ou o uso de bioimpressão 3D para criar redes vasculares artificiais são abordagens exploradas para superar essa limitação. Estas estratégias visam aumentar a eficiência da vascularização, permitindo a formação de tecidos mais espessos e funcionais (Kolesky et al., 2016; Hauser et al., 2021).

2.4.2. ESCALABILIDADE E CUSTO

A produção em larga escala de *scaffolds* comestíveis apresenta obstáculos significativos que impactam a viabilidade econômica da carne cultivada. A complexidade na fabricação de *scaffolds* que atendam aos requisitos técnicos e de segurança para o consumo humano dificulta a escalabilidade do processo. Métodos como a impressão 3D e a microfabricação podem ser dispendiosos e lentos, tornando difícil a produção em massa. A otimização dos processos de fabricação é necessária para reduzir custos e aumentar a eficiência. Além dos custos de produção, a aceitação do consumidor e a disposição a pagar por carne cultivada também influenciam a viabilidade econômica. É necessário encontrar um equilíbrio entre a qualidade do produto final e o custo de produção para tornar a carne cultivada competitiva no mercado. Além disso, a regulamentação e aceitação do consumidor são fatores críticos que afetam seu sucesso comercial (Fu, et al 2023).

A aprovação regulatória para a comercialização de carne cultivada é um processo complexo que varia entre os países. As agências reguladoras exigem a demonstração da segurança dos ingredientes e dos processos de produção, o que pode ser um obstáculo significativo para a introdução no mercado (Bryant & Barnett, 2022). A percepção pública da carne cultivada influencia sua aceitação no mercado. Pesquisas indicam que os consumidores podem ter preocupações relacionadas à segurança, ao sabor e ao impacto ambiental da carne cultivada. É essencial desenvolver estratégias de comunicação e marketing que abordem essas preocupações para aumentar a aceitação do consumidor. Os desafios na estruturação de carne cultivada com *scaffolds* são multifacetados e exigem uma abordagem multidisciplinar para serem superados. A pesquisa contínua em engenharia de tecidos, microfabricação e percepção do consumidor é fundamental para a viabilidade futura da carne cultivada no mercado.

2.5. INOVAÇÕES EM *SCAFFOLDS* PARA CARNE CULTIVADA

2.5.1. *SCAFFOLDS* FUNCIONALIZADOS COM NUTRIENTES E SABOR

Recentemente, houve um aumento na pesquisa sobre *scaffolds* que não apenas suportam o crescimento celular, mas também enriquecem o sabor e o valor nutricional da carne cultivada. A funcionalização de *scaffolds* com nutrientes, como aminoácidos, ácidos graxos e antioxidantes, tem se mostrado uma estratégia promissora para aumentar o valor nutricional da carne cultivada (Petropulos, et al 2021). Esses nutrientes podem ser incorporados aos materiais do *scaffold*, liberando-se gradualmente durante o crescimento celular, o que resulta em carne mais nutritiva (Kumar et al., 2023).

A adição de compostos saborizantes, como extratos de ervas ou especiarias, aos *scaffolds* pode melhorar as características sensoriais da carne cultivada, proporcionando uma experiência gustativa mais próxima da carne convencional (Pradhan et al., 2024). Estudo recente mostrou que *scaffolds* funcionalizados com extratos naturais podem influenciar positivamente o perfil de sabor e aroma da carne cultivada, tornando-a mais atrativa para os consumidores.

2.5.2. USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL PARA *DESIGN* DE *SCAFFOLDS*

A aplicação de inteligência artificial (IA) tem revolucionado o *design* de *scaffolds*, permitindo a otimização para diferentes tipos de carne cultivada. A IA pode ser utilizada para analisar grandes volumes de dados relacionados à estrutura e propriedades dos *scaffolds*, permitindo a criação de designs personalizados para diferentes tipos de carne (Fasciano et al., 2024). Modelos preditivos podem ajustar a estrutura do *scaffold* para replicar as variações desejadas em texturas e propriedades sensoriais específicas para carnes bovinas, suínas, de frango e de peixe.

Com a IA, é possível realizar simulações complexas que avaliam o comportamento do *scaffold* em condições de crescimento celular, permitindo a previsão de como diferentes configurações estruturais podem afetar o resultado final da carne cultivada. Essa abordagem não só economiza tempo, mas também recursos na fase de desenvolvimento.

2.5.3. BIOIMPRESSÃO DE *SCAFFOLDS* MULTICAMADAS

A bioimpressão tem avançado significativamente, permitindo a criação de *scaffolds* multicelulares que incluem diferentes tipos de células. A bioimpressão 3D multicelular possibilita a inclusão de células musculares, adiposas e de tecido conectivo em uma única estrutura, resultando em uma carne cultivada mais realista (Kumar et al., 2023). Essa abordagem permite a mimetização mais precisa das características estruturais e funcionais da carne convencional.

O uso de técnicas de bioimpressão para criar camadas distintas de células pode melhorar a funcionalidade do produto final, permitindo a interação entre diferentes tipos celulares que ocorrem na carne tradicional (Barbosa et al., 2023). Essa estratégia pode levar ao desenvolvimento de produtos com propriedades sensoriais superiores e melhor aceitação pelo consumidor.

2.5.4. NANOTECNOLOGIA NA ESTRUTURAÇÃO DE *SCAFFOLDS*

A nanotecnologia está emergindo como uma ferramenta poderosa na estruturação de *scaffolds*, aumentando a precisão na orientação do crescimento celular. A nanotecnologia permite a manipulação da microarquitetura dos *scaffolds*, resultando em estruturas que orientam de maneira mais eficaz o crescimento celular e promovem a formação de tecidos mais funcionais (Chen et al., 2019; Zhai et al., 2023). Nanomateriais, como nanopartículas de silício ou óxido de grafeno, têm sido utilizados para melhorar a biocompatibilidade e a mecânica dos *scaffolds*.

A aplicação de nanotecnologia pode impactar significativamente as propriedades mecânicas e sensoriais da carne cultivada. A incorporação de nanomateriais pode resultar em uma textura mais próxima da carne convencional, aumentando a aceitação pelo consumidor e a qualidade do produto final. As inovações em *scaffolds* para carne cultivada são essenciais para melhorar a qualidade, o sabor e a aceitação do produto final. A integração de novas tecnologias, como a IA, bioimpressão e nanotecnologia, abre novas possibilidades para o desenvolvimento de carne cultivada com características sensoriais e nutricionais superiores (Choudhury, et al 2020).

2.6. APLICAÇÕES COMERCIAIS E FUTURAS DA CARNE CULTIVADA

2.6.1. PERSPECTIVAS PARA O MERCADO DE CARNE CULTIVADA

O mercado de carne cultivada apresenta um potencial significativo, impulsionado por tendências de sustentabilidade e pela crescente conscientização sobre o impacto ambiental da produção de carne convencional. A carne cultivada está projetada para se tornar uma alternativa viável à carne convencional, especialmente em regiões onde a demanda por produtos de origem animal está em ascensão. Relatórios de mercado indicam que o setor pode atingir um valor de bilhões de dólares na próxima década, à medida que os consumidores buscam opções mais sustentáveis (Bryant & Barnett, 2019).

A produção de carne cultivada tem o potencial de reduzir significativamente as emissões de gases de efeito estufa, o uso de água e a necessidade de terras agrícolas, comparado à produção de carne tradicional (FAO, 2023). Estudos mostram que, se amplamente adotada, a carne cultivada pode contribuir para uma agricultura mais sustentável, ajudando a mitigar as mudanças climáticas.

2.6.2. INTEGRAÇÃO COM AGRICULTURA VERTICAL E PRODUÇÃO LOCAL

A integração de *scaffolds* para carne cultivada em sistemas de agricultura vertical representa uma inovação promissora que pode transformar a produção de alimentos. Sistemas de agricultura vertical podem permitir a produção de carne cultivada em ambientes urbanos, facilitando o acesso a produtos frescos e reduzindo a necessidade de transporte e armazenamento. Esta abordagem não só diminui a pegada de carbono associada ao transporte, mas também promove a segurança alimentar em áreas urbanas densamente povoadas.

A combinação de agricultura vertical com produção de carne cultivada pode resultar em sistemas integrados onde resíduos orgânicos de culturas são utilizados para alimentar as culturas celulares, criando um ciclo sustentável (Kumar et al., 2023). Essa integração pode otimizar a eficiência de recursos e melhorar a sustentabilidade dos sistemas alimentares.

2.6.3. CARNE PERSONALIZADA

A carne cultivada oferece oportunidades únicas para a personalização de produtos, atendendo às demandas específicas dos consumidores. A utilização de *scaffolds* personalizados pode permitir a produção de carne sob demanda com características específicas, como teor de gordura ajustável, diferentes sabores e enriquecimento nutricional (Nurul et al., 2024). Essa capacidade de personalização é especialmente atraente para consumidores preocupados com saúde e bem-estar, permitindo a criação de produtos que atendam às suas necessidades nutricionais. O desenvolvimento de carne cultivada personalizada pode melhorar a experiência do consumidor, oferecendo produtos que não só são mais saudáveis, mas também adaptados a preferências individuais, o que pode impulsionar a aceitação e a demanda por esses produtos no mercado.

2.6.4. PARCERIAS E COLABORAÇÕES NA INDÚSTRIA ALIMENTAR

Parcerias estratégicas entre empresas de biotecnologia, alimentação e agricultura estão acelerando o desenvolvimento de carne cultivada com *scaffolds* inovadores. A colaboração entre startups de biotecnologia e empresas de alimentos estabelecidas está impulsionando inovações na produção de carne cultivada, integrando conhecimento técnico e infraestrutura comercial. Essas parcerias podem acelerar o processo de pesquisa e desenvolvimento, levando a soluções mais rápidas e eficazes. Muitas dessas parcerias focam em objetivos comuns, como a sustentabilidade e a redução do impacto ambiental da produção de alimentos, contribuindo para um futuro alimentar mais responsável. O compartilhamento de recursos e conhecimentos entre setores pode facilitar a comercialização de carne cultivada, tornando-a uma opção viável para os consumidores (Gome, et al, 2024).

As aplicações comerciais e futuras da carne cultivada oferecem uma ampla gama de oportunidades para transformar o mercado de alimentos. À medida que a tecnologia avança e as preferências dos consumidores evoluem, a carne cultivada tem o potencial de se tornar uma alternativa viável e sustentável à carne tradicional.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este capítulo explorou as inovações e desafios relacionados à produção de carne cultivada utilizando *scaffolds*. Discutimos diversas tecnologias emergentes, incluindo a bioimpressão 3D, microfabricação e a auto-agregação celular, que desempenham papéis cruciais na criação de estruturas que imitam a carne convencional. Também examinamos os diferentes materiais utilizados na produção de *scaffolds*, destacando as vantagens e limitações de biomateriais naturais, sintéticos e comestíveis. Além disso, abordamos os desafios significativos que ainda precisam ser superados, como a replicação da textura e estrutura da carne tradicional, a vascularização adequada para nutrição celular e os obstáculos regulatórios e de aceitação do consumidor.

A carne cultivada tem o potencial de transformar o setor alimentar de maneiras inovadoras e sustentáveis. Ao oferecer uma alternativa viável à carne tradicional, a produção de carne cultivada pode contribuir para a redução do impacto ambiental associado à pecuária convencional, abordando questões como as emissões de gases de

efeito estufa e a utilização excessiva de recursos naturais. Além disso, a carne cultivada pode promover práticas alimentares mais éticas, ao eliminar a necessidade de abate animal, respondendo assim a preocupações crescentes dos consumidores sobre bem-estar animal e sustentabilidade. Essa mudança não só pode redefinir a forma como consumimos proteínas, mas também pode instigar uma revolução nos métodos de produção e distribuição de alimentos.

Embora as perspectivas para a carne cultivada sejam promissoras, existem desafios significativos que precisam ser enfrentados para garantir sua viabilidade comercial. Entre esses desafios estão a necessidade de escalabilidade na produção, o desenvolvimento de *scaffolds* eficazes que imitam a textura e a estrutura da carne tradicional e a superação de barreiras regulatórias. No entanto, esses desafios também representam oportunidades para inovação. Avanços na biotecnologia, engenharia de tecidos e design de alimentos podem não apenas melhorar a qualidade e a aceitação da carne cultivada, mas também levar a descobertas que beneficiem a indústria alimentícia como um todo. Assim, a carne cultivada estruturada com *scaffolds* inovadores representa uma interseção fascinante entre ciência e culinária, oferecendo soluções sustentáveis para um futuro alimentar mais ético e eficiente. À medida que a pesquisa e o desenvolvimento continuam a avançar, será crucial que a indústria, os reguladores e os consumidores trabalhem juntos para moldar um caminho que maximize os benefícios dessa tecnologia emergente. A jornada rumo a uma produção de carne mais sustentável e responsável está apenas começando, e o potencial é vasto.

REFERÊNCIAS

[1] BEN-ARYE, T.; LEVENBERG, S. Tissue Engineering for Clean Meat Production. Frontiers in Sustainable Food Systems, v. 3, p. 46, 2019.

[2] BHAT, Z. F.; KUMAR, S.; FAYAZ, H. In vitro meat production: Challenges and benefits over conventional meat production. Journal of Integrative Agriculture, v. 14, n. 2, p. 241-248, 2015.

[3] BOMKAMP, C.; SKAALURE, S. C.; FERNANDO, G. F.; BEN-ARYE, T.; SWARTZ, E. W.; SPECHT, E. A. Scaffolding Biomaterials for 3D Cultivated Meat: Prospects and Challenges. Advanced Science, v. 9, n. 3, p. e2102908, 2022.

[4] DENES, L. T.; RILEY, L. A.; MIJARES, J. R.; et al. Culturing C2C12 myotubes on micromolded gelatin hydrogels accelerates myotube maturation. Skeletal Muscle, v. 9, p. 17, 2019.

[5] FIRDOUS, F. et al. Scaffolds for 3D Cell Culture and Cellular Agriculture Applications Derived From Non-animal Sources. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2020. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2020.00123/full. Acesso em: 14 out. 2024.

[6] GOOD FOOD INSTITUTE. State of the industry report: Cultivated meat and seafood. 2022.

[7] HAN, F. et al. Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Achievements, Future, and Sustainability in Asia. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, v. 8, p. 83, 2020.

[8] JIANG, L.; ZHANG, J.; HE, Y. Recent advances in scaffold design and materials for engineered meat. Engineering, v. 6, n. 9, p. 995-1001, 2020.

[9] KHALID, A. et al. Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds. Carbohydrate Polymers, v. 164, p. 214-221, 2017.

[10] KIRSH, M.; MORALES-DALMAU, J.; LAVRENTIEVA, A. Cultivated meat manufacturing: Technology, trends, and challenges. Engineering in Life Sciences, v. 23, n. 12, p. e2300227, 2023.

[11] KUMAR, A.; SOOD, A.; HAN, S. S. Technological and structural aspects of scaffold manufacturing for cultured meat: Recent advances, challenges, and opportunities. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 63, p. 585-612, 2023.

[12] MAATZ, R.; ALBRECHT, F. B.; KLATT, A.; HEINE, S.; BLAESER, A.; KLUGER, P. J. Scaffolds for Cultured Meat on the Basis of Polysaccharide Hydrogels Enriched with Plant-Based Proteins. Gels, v. 8, n. 2, p. 94, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/gels8020094.

[13] MORONI, L.; BOLAND, T.; PATRÍCIO, T.; BAKER, M. B. Biofabrication strategies for 3D in vitro models and regenerative medicine. Nature Reviews Materials, v. 3, n. 5, p. 21-37, 2018.

[14] NARAYANAN, K. B.; BHASKAR, R.; SUDHAKAR, K.; NAM, D. H.; HAN, S. S. Polydopamine-functionalized bacterial cellulose as hydrogel scaffolds for skin tissue engineering. Gels, v. 9, n. 8, p. 656, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/gels9080656. Acesso em: 14 out. 2024.

[15] OREJUELA-ESCOBAR, L. et al. Prospects of Microalgae for Biomaterial Production and Environmental Applications at Biorefineries. Sustainability, 2021.

[16] POST, M. J. Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. Meat Science, v. 92, n. 3, p. 297-301, 2012.

[17] RAUT, M. P.; ASARE, E.; MOHAMED, S. M. D.; AMADI, E. N.; ROY, I. Bacterial cellulose-based blends and composites: Versatile biomaterials for tissue engineering applications. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 2, p. 986, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijms24020986. Acesso em: 14 out. 2024.

[18] SULAEVA, I. et al. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review. Cellulose, v. 22, p. 525-534, 2015.

[19] UTOIU, E. et al. Bacterial Cellulose: A Sustainable Source for Hydrogels and 3D-Printed Scaffolds for Tissue Engineering. Gels, v. 10, n. 6, p. 387, 2024.

[20] ZULKIFLI, M. Z. A. et al. Overview of Electrospinning for Tissue Engineering Applications. Polymers, 2023.

Capítulo 4

Potencial da biofortificação agronômica utilizando micronutriente em alface, batata, cebola, cenoura e tomate

Allan Sales de Sousa
Noé Mitterhofer Eiterer Ponce de Leon da Costa
Carolina Pereira de Paula
Agostinho Cardoso Hlavanguane
Adilon Martins Rocha
Carmiran Batista Turíbio
Ildon Rodrigues do Nascimento

Resumo: Os alimentos devem fornecer os nutrientes necessários para que o corpo humano mantenha o seu metabolismo normal. A técnica de biofortificação se torna um aliado essencial na nutrição humana, pois através dela busca-se aumentar os teores de nutrientes contidos nos alimentos, seja pelo manejo fitotécnico ou pelo melhoramento genético. As hortaliças possuem um grande potencial para biofortificação e são amplamente utilizadas na alimentação humana. Neste trabalho, fez-se um levantamento de literatura do potencial de biofortificação em alface, batata, cebola, cenoura e tomate com os micronutrientes zinco, iodo, lítio, selênio e ferro. Os dados demonstram que a biofortificação nas hortaliças analisadas promove um aumento significativo da disponibilização desses micronutrientes nos alimentos, tornando viável o seu uso. A alface possui potencial para biofortificação com incremento em relação a não biofortificada de lítio e o zinco em 645% a 420%, respectivamente. Na batata, a bioforticação com iodo promove um incremento de 933% quando comparado com a batata não biofortificada. Em comparação a não biofortificada, em cebola houve um acréscimo em 166% de selênio após a biofortificação. Já em plantas de cenoura biofortificadas, quando comparado ao não biofortificado, houve um aumento de 583% e 542% em selênio e iodo, respectivamente. Na cultura do tomate, o iodo é o micronutriente mais promissor para ser usado na biofortificação, pois houve um aumento de 600%, quando comparado ao controle não biofortificado.

Palavras chave: biofortificação, micronutrientes, hortaliças.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial demanda um aumento da produção de alimentos em quantidade e qualidade. Há um sério problema no equilíbrio nutricional da alimentação da população mundial, onde segundo dados da FAO (2017), mostram que mais de 2 bilhões de pessoas sofrem com deficiências nutricionais. Se levarmos em consideração os problemas da falta de micronutriente, o sobrepeso e a obesidade, uma a cada três pessoas passa por esses problemas no nosso planeta. Com isto surge o alerta para que haja medidas urgentes e eficazes que possa contribuir com a qualidade da alimentação humana, que permitam que os alimentos cultivados no campo com maior quantidade de nutrientes possam chega à mesa a população, garantindo que todos tenham acesso a alimentos nutritivos (FAO, 2017, Embrapa, 2020).

As hortaliças são importante fontes de vitaminas, sais minerais, fibras e antioxidantes. Dentre as hortaliças podemos citar a alface – rica em vitaminas A, B1, e B2, e sais minerais como o manganês; batata – fonte de carboidratos, vitaminas e sais minerais; cebola – rica em ferro e cálcio e vitaminas do completo B; cenoura – referência em fornecimento carotenoides, vitamina A, fornecendo também fibras alimentares, potássio e vitamina B3 e o tomate – fonte de licopeno, vitamina A, C e B1, assim como cálcio, manganês e potássio (Embrapa, 2020, Lana e Tavares, 2010). As hortaliças são importantes por fornecerem a nutrição ideal para a população, mas que pode ter seu potencial melhorado com o uso da biofortificação (Lima, *et al*., 2021; Sousa, *et al*. 2021).

A biofortificação pode ser promovida por meio do melhoramento genético e/ou por meio de práticas agronômicas, como adubação via solo, foliar, solução nutritiva e tratamento de semente que podem interagir com a cultivar para aumentar a capacidade de acumular nutrientes e micronutrientes na parte comestível. Nesse quesito, o manejo nutricional da cultura busca aumentar o teor de minerais, entre os quais os micronutrientes em partes comestíveis das hortaliças (Lima, *et al*., 2021; Sousa, *et al*. 2021).

Diante do potencial das hortaliças em promover e contribuir com a alimentação saudável, nessa revisão de literatura objetivou-se fazer um levantamento do potencial para se promover a biofortificação da alface, batata, cebola, cenoura e tomate com os micronutrientes: zinco, iodo, lítio, selênio e ferro.

2. MICRONUTRIENTES E SUA IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE HUMANA

Os nutrientes essenciais são substâncias presentes nos alimentos que são exigidos para que o corpo dos seres vivos mantenha o metabolismo normal, garantido uma sobrevida saudável (Ávila, 2010; Vitao, 2022).

Esses nutrientes essenciais são divididos em dois grupos: os macros e micronutrientes. Macronutrientes são exigidos em maiores quantidades, já os micronutrientes em doses menores, mas não menos importantes. Por mais que a quantidade de micronutrientes seja menor, mesmo assim são fundamentais para o bom desenvolvimento e manutenção do corpo humano, pois facilitam diversas reações químicas metabólicas (Ávila, 2010; Vitao, 2022).

Os sais minerais compõem um grupo de micronutrientes que é dividido em minerais principais ou macrominerais (magnésio, cálcio, fósforo, enxofre, sódio, potássio e cloro) e os minerais traço ou microminerais (ferro, selênio, zinco, manganês, cromo, cobre, iodo,

flúor e molibdênio). Esses minerais traço são exigidos para consumo diários em quantidades inferior a 100 mg por dia (Martins, 2022).

Dos microminerais que são exigidos para o bom desenvolvimento do corpo humano é necessário que haja um consumo ideal, pois a sua carência assim como seu excesso podem desregular o metabolismo, alguns deles são:

2.1. ZINCO

O zinco é essencial para o desenvolvimento sexual, produção de insulina, contribui para sistema imune e possui ação antioxidante. A quantidade exigida diariamente para adultos são 10 mg. Sua ausência é mais percebida em idosos e está associado a sintomas de baixa efetividade no sistema imunológico, perda da libido, perda do paladar e olfato. Já em altas concentrações pode reduzir a absorção de cobre pelo organismo. É encontrado em carnes, frutos do mar, leguminosas e castanhas (Ávila, 2010; Bitencourt, 2018).

2.2. IODO

Esse micromineral está associado a formação de hormônios da tireoide, que regula o crescimento e desenvolvimento do corpo. Sua necessidade diária para o consumo é de 20 a 50 mg. A deficiência desse mineral pode resultar em bócio, o popular “papo”, que ocasiona o aumento da tireoide. As fontes são o sal iodado e produtos marinhos. (Ávila, 2010; Bitencourt, 2018).

2.3. LÍTIO

Por sua pequena quantidade na necessidade de ingestão diária, em torno de 10 mcg por dia, o lítio muitas vezes não tem sido considerado um micromineral essencial para o ser humano. Ultimamente vem se relatado a necessidade do terapêutico desse elemento nos seres humanos, principalmente por estar relacionado a doenças psiquiátricas, principalmente para bipolaridade, onde possui um efeito estabilizador do humor, reduzindo em alguns estudo a taxa de suicídios em paciente bipolares. Esse micromineral pode ser encontrado em grãos e minerais (Schrauzer, 2002; Almeida, 2020).

2.4. SELÊNIO

Junto com a vitamina E atua como forte antioxidante, combatendo a atividade de radicais livres. Por sua requisição pelo corpo humano ser baixa, de 50 a 200 mcg diário, é raro os sinais de deficiência, mas quando ocorrem estão associados a doenças cardíacas, tireoide e diminuição do sistema imune. Já o excesso pode promover diversos malefícios como perda de cabelo, unhas e dentes. As fontes de selênio são as castanhas, vísceras animais (fígado, rins e moela, principalmente), frutos do mar e cereais integrais (Ávila, 2010; Bitencourt, 2018).

2.5. FERRO

Um dos micronutrientes mais conhecidos, é um dos componentes da hemoglobina dos glóbulos vermelhos que auxilia no transporte de oxigênio. Muito importante o consumo

de alimentos que tenham esse elemento, principalmente por mulheres, que necessitam o dobro da quantidade exigida pelos homens. A falta desse nutriente reduz a quantidade de oxigênio para os tecidos, anemia e fadiga. Já em excesso provoca distúrbios gastrointestinais, sendo tóxico para o corpo humano. Sua ingestão diária recomendada é de 10 mg. O ferro é encontrado em carnes, vísceras animais (fígado, rins e moela, principalmente), gema de ovo, leguminosas e cereais integrais (Ávila, 2010; Bitencourt, 2018).

3. ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE MICRONUTRIENTES EM PLANTAS

Para as plantas, assim como para todos os organismos vivos, os micronutrientes possuem sua importância. Eles são considerados micronutrientes pois são encontrados em concentrações mais baixas nos tecidos das plantas, mas possuem papel muito importante no crescimento e metabolismo das plantas. Esse grupo de nutrientes é constituinte de grupos prostéticos (catalisando processos redox por transferência de elétrons) e metalproteínas, ativadores e componentes enzimáticos (ligando as enzimas aos seus substratos) como a superóxido dismutase (SD) tão importante para erradicação de radicais de oxigênio tóxico (Kirkby & Römheld, 2007).

No entanto, para que possam estar presentes nos tecidos da planta é necessário que seja absorvida pela mesma. Essa absorção pode ser realizada tanto pela raiz quanto pela folha. Pela raiz essa absorção da solução do solo para as células da raiz pode ser de duas formas, ou seja, transporte passivo ou ativo (Faquin, 2005; Kirkby & Römheld, 2007).

O transporte passivo se dá pela diferença de concentração, onde a maior está na solução do solo do que o interior celular, fazendo com que esse nutriente entre na célula por troca iônica, difusão, fluxo de massa e Equilíbrio de Donnan. Esse último um processo mais rápido e reversível (Faquin, 2005).

Já o transporte ativo, que é lento e irreversível, se dá contra o gradiente de concentração, necessitando de "carregador" para que esse nutriente entre na célula com um gasto energético pela planta. Esses carregadores são denominados bombas ou carregadores de transporte iônico (Faquin, 2005, Taiz e Zeiger, 2017).

A absorção de nutrientes além das raízes pode ocorrer nas folhas das plantas, pois além da função de síntese através da fotossíntese, as folhas possuem a capacidade de absorção de água e nutrientes. A solução de nutrientes quando na superfície do limbo foliar pode permear a cutícula pelo processo de difusão, assim como a entrada através da fenda estomática (Faquin, 2005, Taiz e Zeiger, 2017).

Após absorvidos, os micronutrientes são transportados na planta do local de absorção para outros locais necessários na planta. Na raiz esses elementos precisam ser transportados das células da epiderme até os vasos no cilindro central (transporte radial), de forma simplastica, apoplastica e transmembranas. Após chegar nos vasos condutores do xilema são direcionados para a parte aérea da planta (transporte a longa distância) (Faquin, 2005; Kirkby & Römheld, 2007).

A tabela 1 descreve a forma química de absorção e sua mobilidade na planta para os micromineirais zinco (Zn), iodo (I), lítio (Li), selênio (Se) e ferro (Fe).

Tabela 1 Formas de absorção dos micronutrientes zinco (Zn), iodo (I), lítio (Li), selênio (Se) e ferro (Fe) pelas plantas

Micronutriente	Forma de absorção	Mecanismo de absorção	Mobilidade
Zinco	Zn^{2+}	Passivo	Intermediária
Iodo	I^{-}	Passivo	Baixa
Lítio	Li^{+}	Passivo (fluxo de massa	Baixa
Selênio	SeO_4^{2-}	Passivo (fluxo de massa)	Baixa
Ferro	Fe^{2+}	Ativo	Baixa

Fonte: Taiz e Zeiger, 2017.

4. POTENCIAL DE USO DO ZINCO, IODO, LÍTIO, SELÊNIO E FERRO NA BIOFORTIFICAÇÃO EM HORTALIÇAS

Cada micronutriente possui uma quantidade mínima diária a ser consumida pelos seres humanos para que não haja deficiência. Essa ingestão pode vir de diferentes fontes, inclusive por hortaliças. As quantidades de ingestão diária recomendada (IDR) recomendada pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária (Anvisa) de micronutrientes encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 Quantidade de ingestão diária recomendada (IDR) de micronutrientes por uma pessoa adulta

Microutriente	Unidade	Adulto
Zinco	mg/dia	7
Iodo	mcg/dia	130
Lítio	mcg/dia	3,1
Selênio	mcg/dia	34
Ferro	mg/dia	14

Fonte: Anvisa, 2005.

Foi realizado um levantamento de trabalhos com a utilização de micronutriente essenciais para o ser humano: zinco, iodo, lítio, selênio e ferro nas culturas da alface, batata, cebola, cenoura e tomate. Esses dados estão resumidos Tabela 3. Estes micronutrientes foram selecionados pois são os que estão sendo mais estudados nos trabalhos de biofortificação em hortaliças (Mascarenhas e Dias, 2021). Foi feito uma comparação da quantidade comum que foi denominada como controle, sem a adubação do micronutriente e a biofortificada com a adição do micromineral em estudo, na parte da planta que é utilizado para consumo.

Tabela 3 Quantidades comum (mg/100g e g/dia), biofortificada (mg/100g e g/dia) e porcentagem de aumento de hortaliças biofortificada com micronutrientes

Micronutriente	Quantidade comum (mg/100g) Controle	Quantidade Biofortificada (mg/100g)	Aumento (%)	Consumo Comum (g/dia)	Consumo Biofortificada (g/dia)	Fonte
Alface						
Zinco	0,1 mg	0,52	420	7.000	1.320,75	Lima, et. al. 2023
Iodo	0,06 mg	0,6	89	216,6	21,6	Puccinelli,et. al. 2021
Lítio	0,53 mg	3,95	645	0,58	0,02	Faria, et. al. 2024
Selênio	0,00	3,05	305	3400	1,15	Puccinelli et. al. 2022
Ferro	0,77	2,24	191	1.818,18	625	Buturi, et. al. 2022
Batata						
Zinco	12,5	43,56	248,48	56	16,06	Carmona, 2018
Iodo	0,015	0,155	933	866,66	83,87	Ledwożyw-Smoleń, et. al. 2010
Lítio*	-	-	-	-	-	-
Selênio	0,2 mg	1	400	17	3,4	Oliveira, et. a. 2019
Ferro	22	36,08	64,57	63,63	38,80	Mushtaq, et. al. 2023
Cebola						
Zinco	2,99	4,72	57,86	234,11	148,30	Ferreira, et. al. 2022
Iodo*	-	-	-	-	-	-
Lítio*	-	-	-	-	-	-
Selênio	0,5	83,10	166.100	6,8	0,040	Adhikari, et. al. 2012
Ferro	30	118,8	296	46,67	11,78	Gemin, et. al. 2021
Cenoura						
Zinco	0,15 mg	0,3 mg	94	4.666,67	2.333,33	Buturi, et. al, 2023.
Iodo	0,007 mg	0,045 mg	542	1.857,14	288,88	Smolen, *et al*., 2019
Lítio*	-	-	-	-	-	-
Selênio	0,06 mg	0,35 mg	583	56,67	9,71	Smolen, *et al*., 2019
Ferro	0,5 mg	0,9 mg	52	2.800	1.555,55	Bururi, et. al, 2023.
Tomate						
Zinco	3,51	3,84	9,40	199,43	182,29	Yudicheva, 2014
Iodo	0,27	1,98	633,33	48,15	6,56	ŞAHİN, 2020
Lítio*	-	-	-	-	-	-
Selênio	1,68	3,58	113,10	0,20	0,095	Rahim, 2020
Ferro	2,85	3,96	38,95	491,22	353,54	ŞAHİN, 2020

* não encontrado referências com utilizando este micronutriente

Com os dados obtidos das pesquisas analisadas da quantidade dos micronutrientes presentes nas hortaliças comum e biofortificada, calculou-se a quantidade de alimento que necessitaria ser consumido de cada hortaliça por uma pessoa para atingir as quantidades diárias necessárias apresentadas na Tabela 2.

Na Tabela 3 percebe-se que alguns nutrientes são mais promissores para realizar a biofortificação, pois tem potencial para aumento de sua quantidade nas hortaliças. Para a alface, o lítio e o zinco são promissores pois percebe-se um aumento de 645% a 420%, respectivamente. Na batata, o iodo se torna mais expressivo, havendo um acréscimo de 933% quando comparado com batata que não foi biofortificada. Na cebola, o selênio apresentou um acréscimo de 166% após a biofortificação. Para a cultura da cenoura, destaca-se o selênio e o iodo, que comparado ao não biofortificado, houve um aumento de 583% e 542%, respectivamente. Na cultura do tomate, o iodo é o micronutriente mais

promissor para promover a biofortificação com aumento de 600%, quando comparado ao controle.

Considerando cada micronutriente, os destaques das culturas para consumo diário quando biofortificada são: zinco – batata (16,06 $g.dia^{-1}$); iodo – tomate (6,56 $g.dia^{-1}$); lítio – alface (0,02 $g.dia^{-1}$); selênio (0,040 $g.dia^{-1}$); Ferro – cebola (11,78 $g.dia^{-1}$). Consumindo essas hortaliças, mesma em poucas quantidades já irá suprir à quantidade diária necessária para o bom funcionamento do corpo humano.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos comprovam que há a possibilidade de biofortificação das hortaliças, sendo as culturas citadas no trabalho com alto potencial da aplicação desta técnica.

A produção de hortaliças biofortificada pode viabilizar a suplementação da necessidade humana com micronutrientes, suprindo a necessidade diária com uma menor quantidade de alimentos ingerido, tornando-se mais acessível e assim reduzindo a subnutrição apresentada pela população.

REFERÊNCIAS

[1] ADHIKARI, **Pradip. Biofortification of Selenium in broccoli (Brassica oleracea L. var. italica) and onion (Allium cepa L.)**. 2012.

[2] Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), Ministério da Saúde. **Resolução – RDC N° 269 de 22 de setembro de 2005**. Brasil, 2005.

[3] Almeida, A. A.. **O Lítio na bioquímica e terapêutica**. Re. Ciência Elementar, V.8, n° 3, 2020.

[4] Ávila, M. A Importância dos Sais Minerais. **ENDOCRINOLOGIA** 18 de setembro de 2010. Disponível em: http://www.endocrinologia.com.br/nutricao/a-importancia-dos-sais-minerais.php#:~:text=Microminerais%20ou%20elementos%20tra%C3%A7o%3A%20s%C3%A3o,sistema%20imunol%C3%B3gico%20e%20a%C3%A7%C3%A3o%20antioxidante. Acesso: 26/05/204

[5] Bittencourt, José Augusto. **Nutrição e saúde: como fazer escolhas sensatas em dieta e nutrição**. 6ª ed. - São José dos Campos, 2018

[6] BUTURI, Camila Vanessa *et al*. **Iron and zinc biofortification and bioaccessibility in carrot 'Dordogne': Comparison between foliar applications of chelate and sulphate forms. Scientia Horticulturae,** v. 312, p. 111851, 2023.

[7] BUTURI, Camila Vanessa *et al*. **Iron biofortification of greenhouse soilless lettuce: An effective agronomic tool to improve the dietary mineral intake**. Agronomy, v. 12, n. 8, p. 1793, 2022.

[8] CARMONA, Victor Manuel Vergara. Fortificação da batata e biofortificação agronômica da beterraba com zinco. 2018.

[9] DIS - Departamento de Informática em Saúde, Escola Paulista de Medicina/Unifesp. Tabela de Composição Química dos Alimentos - Versão 3.0

[10] EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisas Agronômicas. Artigo – Por que devemos consumir mais hortaliças? **EMBRAPA** Disponível em: https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/56533086/artigo---por-que-devemos-consumir-mais-hortalicas#:~:text=Sabe%2Dse%20que%20o%20consumo,em%20alimentos%20de%20origem%20animal. Acesso: 23/05/2024.

[11] FAO - Food and Agriculture Organization. Má nutrição poderá afetar mais da metade população mundial até 2030. **FAO**. 2017. Disponível em: https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/es/c/1058214/ Acesso: 23/05/2024.

[12] Faquin, V. **Nutrição Mineral de Plantas**. Lavras: UFLA / FAEPE, 2005

[13] FARIA, Álvaro José Gomes *et al*. **Foliar-Applied Lithium And Its Effect On Morpho-**

Physiological Behavior And The Elemental Composition Of Lettuce. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 55, n. 14, p. 2059-2072, 2024.

[14] FERREIRA BERTINO, Nubia Marisa *et al*. **Quality and agronomic biofortification of onion as a function of fertilization with micronutrients. Journal of Plant Nutrition**, v. 45, n. 15, p. 2251-2262, 2022.

[15] GEMIN, Luiz Gabriel *et al*. **Organic onion biofortification using microalgae and humic acid. Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, 2021.

[16] LANA, M. M.; TAVARES, S. A. (Ed.). 50 **Hortaliças: como comprar, conservar e consumir**. 2. ed. rev. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010

[17] LEDWOŻYW-SMOLEŃ, Iwona *et al*. **Iodine biofortification of potato (Solanum tuberosum L.) grown in field. Agronomy**, v. 10, n. 12, p. 1916, 2020.

[18] LIMA, F. S.; SOUZA, R. P. M; BRITO, E. R.; SANTOS, T. R.; XAVIER, P. P. C.; BRITO, R. R.; VALENTE, R. L. P.; LEAL, V. P. A.; OLIVEIRA, V. A. **Biofortificação de alimentos: métodos de campo utilizados no enriquecimento de partes comestíveis de vegetais com zinco e o enfrentamento da desnutrição humana**. Agricultura e Agroindústria no contexto do desenvolvimento rural sustentável, 2021.

[19] MARTINS, Maria Leonor Gomes. O papel dos micronutrientes. 2022. Tese de Doutorado.

[20] MASCARENHAS, Karina e DIAS, Pollyana. Biofortificação de alimentos é a aposta no combate à fome oculta. **Portal UFLA.** Lavras, 27 Setembro 2021. Disponível em: https://ufla.br/noticias/pesquisa/12905-biofortificacao-de-alimentos-e-a-aposta-no-combate-a-fome-oculta#:~:text=Micronutrientes%20como%20iodo%2C%20zinco%20e,a%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20%E2%80%9Csuperalimentos%E2%80%9D.

[21] MUSHTAQ, Zain *et al*. **Biofortification of Iron in Potato Through Rhizobacteria and Plant Growth Regulator. Potato Research**, p. 1-9, 2023.

[22] NIKOLIC, Miroslav et al. **Germanium-68 as an adequate tracer for silicon transport in plants. Characterization of silicon uptake in different crop species**. **Plant Physiology**, v. 143, n. 1, p. 495-503, 2007.

[23] OLIVEIRA, Vanuze Costa *et al*. **Physiological and physicochemical responses of potato to selenium biofortification in tropical soil. Potato Research**, v. 62, p. 315-331, 2019.

[24] PUCCINELLI, M. *et al*. **Iodine biofortification of sweet basil and lettuce grown in two hydroponic systems. Scientia Horticulturae**, v. 276, p. 109783, 2021.

[25] PUCCINELLI, Martina *et al*. **Biofortification of lettuce and basil seedlings to produce selenium enriched leafy vegetables. Horticulturae**, v. 8, n. 9, p. 801, 2022.

[26] RAHIM, **Foroughbakhch Pournavab *et al*. Agronomic biofortification with selenium in tomato crops (Solanum lycopersicon L. mill). Agriculture**, v. 10, n. 10, p. 486, 2020.

[27] ŞAHİN, **Özge. Combined iodine, iron and zinc biofortification of tomato fruit. Journal of the Institute of Science and Technology**, v. 10, n. 3, p. 2242-2251, 2020.

[28] SCHRAUZER, G. N. **Lithium: Occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, p. 14–21, 2002.

[29] SMOLEŃ, Sylwester *et al*. **Combined biofortification of carrot with iodine and selenium**. Food chemistry, v. 300, p. 125202, 2019.

[30] Sousa, A. P. **Hortaliças como alternativa para promoção da biofortificação mineral**, p. 199 – 210 Ponta Grossa - PR: Atena, 2021. (2021).

[31] TAIZ, Lincon e ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2017.

[32] VITAO. Descubra quais são os nutrientes para uma alimentação saudável. **VITAO.** 03 de março de 2022 Disponível em: https://ser.vitao.com.br/quais-sao-os-nutrientes-para-uma-alimentacao-saudavel/ Acesso: 26/05/204

[33] YUDICHEVA, O. **Study of zinc content in biofortified tomato. The advanced science jornal**. , 2014.

Capítulo 5

Subprodutos da agroindústria na alimentação de frangos de corte

Juliana Ferreira de Almeida
Claudete Maria da Silva Moura
José Anderson da Silva
Glayciane Costa Gois

Resumo: O uso de *commodities* como o milho, que é amplamente usado na alimentação humana, além da produção de biocombustível, podem elevar os custos com a alimentação em um sistema de produção animal. Nesse sentido, alternativas alimentares vêm sendo testadas para que outros ingredientes possam ser usados na composição de dietas para frangos de corte, em substituição parcial ou total do milho. As pesquisas buscam apresentar informações nutricionais a respeito do alimento alternativo usado, visando manter as respostas relacionadas ao desenvolvimento produto dos animais similares ou superiores ao milho, de forma que a substituição dessa matéria-prima seja benéfica nutricionalmente e que os custos com a alimentação possam ser reduzidos. O Brasil apresenta uma diversidade de resíduos e subprodutos agroindustriais que podem ser usados na alimentação de frangos de corte. Assim, buscamos apresentar um levantamento sobre as pesquisas realizadas com o uso de subprodutos usados na alimentação de frangos de corte.

Palavras-chave: agroindústria, alimento alternativo, avicultura, desempenho.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária intensiva é a estrutura predominante na produção de carne de frango no Brasil. Os avanços no campo da genética e na área nutricional trouxeram benefícios e produtividade em linhagens mais adequadas à avicultura. Os diferentes fornecedores de insumos são importantes elos da cadeia e geradores de parte significativa dos ganhos de produtividade da avicultura (Sakamoto et al., 2020).

Devido ao rápido ciclo produtivo, e fatores como, uma estrutura organizacional verticalizada e por ser uma proteína de baixo custo, a cadeia produtiva de frangos de corte se destaca no Brasil, sendo capaz de competir de forma significativa com as demais cadeias produtoras de carne (Schmidt e Silva, 2017). O sucesso no desempenho do setor se deve a constante implementação de novas tecnologias aliadas a captação de técnicos altamente qualificados que impulsionam e desenvolvem de forma correta os diferentes tipos de manejo no ciclo de produção das aves (Amorim et al., 2015).

Embora seja um setor promissor, é necessário ficar atento aos gargalos que podem encarecer a produção como, a alimentação. Para Andriguetto et al. (2002), a alimentação representa 75% dos custos de produção na avicultura comercial, e tem como base as matérias-primas milho e soja o que a torna mais onerosa. Em decorrência dessa situação o uso de ingredientes alternativos ao milho e a soja veem sendo cada vez mais estudados, com o principal objetivo de baratear o custo no sistema sem, no entanto, diminuir a produtividade, atentando-se dessa forma, ao atendimento de todas as exigências nutricionais dos animais nas diferentes fases de vida (Abbas, 2023). A disseminação de estudos utilizando alimentos alternativos em rações avícolas devem reduzir os custos com alimentação, mantendo o bom desempenho das aves a partir do uso que resíduos que seriam descartados (Rufino et al., 2017).

O uso de subprodutos da agroindústria, tem despertados o interesse de pesquisadores em decorrência do volume de resíduos gerados durante o processo de fabricação, e entram como alternativas à substituição do milho e da soja, uma vez que, podem ser adquiridos por um preço mais baixo e possuem, a depender da localidade, fácil acesso em quantidades suficientes durante todo o ano. Além do barateamento de custos, a utilização de subprodutos oriundos da indústria possui uma vertente ecológica e sustentável, uma vez que, a utilização desses resíduos na alimentação animal diminui o descarte de forma inapropriada no meio ambiente, sendo então uma estratégia eficaz de gestão e aproveitamento de resíduos (Sosnówka-Czajka et al., 2023).

Diante do exposto, o objetivo dessa revisão é apresentar algumas alternativas de ingredientes oriundos da agroindústria que podem ser utilizados na alimentação de frangos de corte no Brasil e no mundo e seus efeitos na produção avícola.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. TORTA DE GIRASSOL

O girassol (*Helianthus annuus*) é encontrado amplamente em todo o mundo e é responsável pelo fornecimento de óleo de girassol, sendo o principal produto da cadeia desta oleaginosa. O óleo é produzido por processos industriais distintos: o primeiro processo apresenta alta eficiência e utiliza solvente sob alta temperatura para produzir um subproduto conhecido como farelo de girassol. No segundo processo, as sementes são prensadas a frio em processo mecânico, gerando a torta de girassol (Souza et al., 2022).

A torta de girassol é caracterizada como um produto mais rico em lipídeos do que o farelo de soja (15,05%) e com porcentagens moderadas de proteína bruta (27,54%), mas que apresenta bons resultados nas rações para frango de corte (Oliveira et al., 2012; Costa Junior et al., 2015). De acordo com Souza et al. (2022), a torta de girassol apresenta em sua composição: 92.81 % de matéria seca, 19.35 % de proteína bruta, 43.95 % de fibra em detergente neutro, 15.52 % de extrato etéreo, 2.66 % de cinzas e 2774.00 kcal/kg de energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio. No entanto, a composição nutricional da torta de girassol é bastante variável devido à variedade genética, características edafoclimáticas do local de plantio e manejo nutricional, além do tipo e regulagem da prensa utilizada no processamento das sementes, o que afeta diretamente a sua composição química e, consequentemente, a quantidade de sua inclusão nas rações (Petraru et al., 2021; Vasudha and Sarla, 2021).

O uso da torta de girassol em substituição ao farelo de soja pode ser uma alternativa vantajosa para o barateamento dos custos com a alimentação das aves. Costa Junior et al. (2015), avaliaram quatro níveis de inclusão (0%, 5%, 10% e 15%) de torta de girassol na ração de frangos de corte semi-caipiras de 1 a 80 dias, concluindo que a utilização desse ingrediente em até 15% na alimentação das aves nas fases de crescimento e terminação pode ser utilizada, sem acarretar prejuízos à produção.

Em outro estudo Oliveira et al. (2012), realizaram dois experimentos onde, o primeiro avaliou a digestibilidade em frangos de 28 dias de idade da linhagem Ross e o segundo o desempenho de frangos de corte nas fases de crescimento e terminação alimentados com torta de girassol, os animais receberam duas dietas, uma controle com milho e farelo de soja e a outra contendo 20% de torta de girassol, os autores concluíram que o ingrediente pode ser considerado de valor nutricional intermediário, entre o farelo e o grão do girassol e tem como fator limitante o elevado teor de fibra, mas que considerando-se a conversão alimentar das aves recomenda-se a inclusão de até 18% nas rações para frangos a partir de 20 a 34 dias de idade.

Buscando avaliar a viabilidade da utilização da torta de girassol na alimentação e desempenho de frangos de corte, Berwanger et al. (2016), utilizaram níveis de inclusão de 0%, 5%, 10%, 15% e 20% do ingrediente, com e sem a inclusão de um complexo enzimático para frangos de 22 a 42 dias de idade e constataram que o consumo de ração, ganho de peso, peso final e conversão alimentar pioraram com o aumento da torta nos níveis de 15 e 20% na ração. Já quando o houve a inclusão do complexo enzimático, as aves apresentaram melhora na profundidade das criptas e a relação vilosidade:cripta no jejuno. Com isso os autores afirmam que com base no desempenho das aves a inclusão da torta de girassol em até 10% na alimentação de frangos de corte é benéfica. Em outro momento Berwanger et al. (2017) ao avaliarem o desempenho e rendimento de carcaça de frangos alimentados com níveis crescentes de torta de girassol (5, 10, 15 e 20%) observaram redução no ganho de peso, rendimento de carcaça e dos cortes comerciais, no entanto ocorreu aumento nos rendimentos do fígado, pâncreas e gordura abdominal, recomendando o uso de até 10% de torta de girassol na alimentação dos animais.

Kalmendal et al. (2011), em experimento utilizaram a torta de girassol rica em fibras nas proporções de 0%, 10%, 20% e 30% na alimentação de frangos de corte de 15 a 31 dias de idade e observaram que em geral a inclusão da torta de girassol aumentou linearmente de forma significativa a digestibilidade ileal de gordura e proteína e diminuiu de forma linear e significativa a digestibilidade ileal de matéria seca, cinzas e energia, houve aumento no ganho de peso e não houve prejuízos na conversão alimentar com 20% de inclusão. No lúmen jejunal a inclusão da torta foi associada a reduções lineares

significativas de *Clostridium* spp. Dessa forma os autores destacam que a utilização de torta de algodão na dieta de frangos de corte causa efeitos positivos na digestão e na saúde do intestino delgado das aves.

2.2. FARELO DE ARROZ

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o alimento básico de mais da metade da população mundial. É cultivado em mais de 100 países, nos quais milhões de pessoas dependem dele para a sua subsistência, especialmente na Ásia (Tan et al., 2023). De acordo com a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), entre os anos 2022/2023 a produção mundial de arroz em casca foi de 519.5 milhões de toneladas (FAO 2024).

O arroz produzido pode ser separado em arroz polido e arroz integral. O farelo de arroz é obtido após a moagem do arroz integral, e apresenta excelentes níveis de nutrientes. O arroz integral é coberto pela camada de farelo com alto teor de fibra alimentar, sendo frequentemente processado em farinha como matéria-prima para posterior produção de pão, macarrão e farinha. O arroz polido é obtido após a retirada de toda a camada de farelo do arroz integral, restando apenas o endosperma amiláceo. Portanto, o arroz integral possui maior teor de nutrientes não amiláceos como proteínas, minerais, ácidos graxos, fibras alimentares e compostos fenólicos do que o arroz polido, pois esses nutrientes se concentram na camada de farelo (Yan et al., 2020).

Embora seja bastante produzido no País, a utilização dos subprodutos do arroz ainda não é muito utilizada na alimentação de frangos de corte, no entanto, apresenta-se como excelente forte alternativa ao uso do milho e da soja (Cancherini et al., 2008). De acordo com Attia et al. (2023), o farelo de arroz é de grande interesse para a alimentação de aves devido ao seu considerável teor de nutrientes, apresentando 89,77 % de matéria seca, 14,89 % de proteína bruta, 7,88 % de fibra bruta, 17,32% de extrato etéreo, e 6,54% de cinzas.

O farelo de arroz também contém grandes quantidades de fitoquímicos bioativos, como tocoferóis, tocotrienóis, orizanóis, vitaminas do complexo B, fitoesteróis (β-sitosterol, campesterol e estigmasterol), carotenóides e compostos fenólicos (Beaulieu et al., 2022). Segundo Attia et al. (2023), os fatores nutricionais podem limitar a utilização do farelo de arroz na nutrição de aves, como o baixo teor de proteína e alto teor de fibra e extrato etéreo, além da presença de ácido fítico e polissacarídeos não amiláceos que contribuem para a baixa utilização do farelo nas dietas, uma vez que, pode aumentar a viscosidade intestinal, reduzir o tempo de trânsito intestinal e afetar negativamente o aproveitamento de seus nutrientes (Gallardo et al., 2020).

Alguns métodos e técnicas como fermentação, suplementação de enzimas e utilização do produto fermentado podem melhorar a qualidade do farelo de arroz e, assim, melhorar o desempenho de frangos de corte quando alimentados com dietas contendo farelo de arroz, são testados em diferentes pesquisas (Attia et al., 2023). Gallardo et al. (2020), em estudo visando determinar o efeito das enzimas multicarboidrase e fitase na retenção total de nutrientes, testaram dois ensaios: retenção de energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMA_N) (ensaio 1), ileal aparente padronizada e digestibilidade de aminoácidos do farelo de arroz (ensaio 2), utilizaram frangos da linhagem Cobb 500 com 245 dias de idade, e ofertaram dietas contendo 0 e 200 mg/kg de multicarboidrase, 0 e 50 mg/kg de fitase e a dieta basal à base de milho para o ensaio 1 e amido de milho e caseína para o ensaio 2. Os autores observaram que houve interação entre as enzimas

para matéria seca, nitrogênio e EMA_N, além disso as enzimas também interagiram de forma significativa na digestibilidade ileal padronizada dos aminoácidos, arginina, histidina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina, valina, ácido aspártico, ácido glutâmico, prolina e serina. A combinação das enzimas resultou em maior digestibilidade padronizada do que a suplementação única ou dieta controle.

Zhang et al. (2021), determinaram a energia digestível ileal, energia metabolizável e energia metabolizável corrigida pra nitrogênio, do arroz integral, quirera e farelo de arroz. Foram utilizadas 336 aves, inicialmente do dia 0 ao dia 14 alimentadas com a dieta padrão e do dia 15 ao 21 com as dietas experimentais e concluíram que a adição de arroz integral ou quirera arroz aumentou de forma significativa e linear a digestibilidade ileal da matéria seca, bem como a metabolizabilidade total de MS, energia e energia corrigida para nitrogênio no trato gastrointestinal das aves. Já a inclusão de farelo de arroz diminuiu de forma significativa e linear a digestibilidade e utilização de energia na dieta teste.

Lamid et al. (2020), avaliaram a substituição parcial da ração comercial de frangos de corte por farelo de arroz fermentado com fitase (FAFF) e farinha de cúrcuma nas concentrações de colesterol total, triglicerídeos, colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e alta densidade (HDL). Para isso foram utilizados frangos de corte machos distribuídos em 6 tratamentos: T1:100% da ração controle, T2: 100% da ração controle + 2% de farinha de cúrcuma, T3: 95% da ração controle + 5% de FAFF + 2% de farinha de cúrcuma, T4: 90% da ração controle +10% FAFF + 2% de farinha de cúrcuma, T5: 85% da ração controle + 15% FAFF + 2% da farinha de cúrcuma e T6: 80% da ração controle + 20% FAFF + 2% da farinha de cúrcuma. E apresentaram os seguintes resultados, os frangos alimentados em todos os tratamentos com FAFF apresentaram níveis de colesterol total e LDL significativamente mais baixos do que o grupo controle, com isso, os autores sugerem que a inclusão parcial de farelo de arroz fermentado com fitase na ração de frangos de corte pode ser usada para reduzir as deposições de colesterol, LDL e triglicerídeos ao mesmo tempo em que aumenta o conteúdo de HDL na carne.

Sabe-se que o farelo de arroz contém altos níveis de enzimas lipolíticas que requerem métodos térmicos e não térmicos para estabilizar esses materiais (Beaulieu et al., 2022). Buscando avaliar a estabilidade do farelo de arroz em ração para frangos de corte com antioxidantes naturais e sintéticos e tratamento térmico, Gopinger et al. (2019) submeteram o farelo de arroz a três tratamentos com aditivos antioxidantes (sem antioxidantes, natural e sintético), e a três tratamentos térmicos (sem calor, calor seco e calor úmido), para evitar a oxidação e posteriormente armazenado por 90 dias. Os autores observaram que a oferta de dietas contendo 6,5 % de farelo de arroz com antioxidante sintético e tratado com calor úmido elevou o consumo diário de ração pelos frangos de corte, no entanto não ocorreu efeito sobre os pesos e rendimentos do peito e fígado, assim como também não houve efeito sobre as variáveis analisadas no peito (perdas por gotejamento e cozimento, força de cisalhamento, luminosidade, intensidade de vermelho e intensidade de amarelo).

2.3. FARELO DE TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é detentor de aproximadamente 30% da produção mundial de grãos (Pires, 2014). De acordo com as informações divulgadas pela Conab (Companhia Nacional de Abastecimento), em 2022 ocorreu uma produção de 9,5 milhões de toneladas

de trigo (Conab, 2022) inferindo que o bom resultado produtivo foi influenciado pela alta demanda pelo cereal. No entanto, Souza e Vieira Filho (2021) afirmam que, apesar do trigo ser a principal cultura de inverno produzida no Brasil, a produção de trigo não é capaz de atender às necessidades internas de consumo, sendo dependente de importações.

O trigo apresenta usos múltiplos, sendo usado na alimentação humana, na elaboração de produtos não alimentícios, bem como na alimentação animal, na forma de forragem, de grão ou na composição de ração (Pires, 2014). É uma excelente fonte de proteínas, fibras, minerais, vitamina B6, tiamina, vitamina E, compostos fenólicos e alquil resorcinol. No entanto, a sua composição varia de acordo com a variedade de trigo e as condições de cultivo (Uttam et al., 2023).

O farelo de trigo é um dos subprodutos agrícolas mais abundantes. Estima-se que um milhão de toneladas de trigo possam produzir 0,25 milhões de toneladas de farelo como subproduto (Uttam et al., 2023). De acordo com os estudos de Li et al., (2023), O farelo de trigo apresenta 15,6 g/100 de proteína, 42,8 g/100 de fibra dietética, 64,5 g/100 de carboidratos, 216 kcal/100g de energia, e 4,25 g/100 de gorduras totais. A utilização do farelo de trigo na alimentação de aves ainda é pouco explorada devido a presença de fatores antinutricionais presentes em sua composição como, ácido fítico, hemicelulose xilana e polissacarídeos não amiláceos, além desses fatores, seu baixo teor de proteínas e alto valor de fibra acabam dificultando seu uso para este fim (Zhang et al., 2022).

O uso da fermentação tem sido uma forma de melhorar o valor nutritivo desse ingrediente (Yeh et al., 2018), possibilitando sua utilização com mais facilidade na dieta de aves, Zhang et al (2022), investigaram os efeitos do farelo de trigo fermentado em estado sólido no desempenho de crescimento e digestibilidade aparente de frangos de corte, foram utilizados pintinhos com 38 dias de idade alimentados com uma dieta controle contendo milho e farelo de soja e uma mistura da dieta controle com a utilização do farelo de trigo fermentado, e concluíram que a suplementação da dieta com farelo de trigo fermentado não afetou o desempenho de crescimento das aves e sendo assim, é um ingrediente que pode ser utilizado de forma segura para aves de corte.

Idan et al. (2023), avaliaram os efeitos da utilização da multienzima (XGP) no desempenho de crescimento, na morfometria intestinal e nos parâmetros séricos de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de farelo de trigo. Foram utilizados 720 pintinhos da linhagem Cobb com 7 dias de idade, foram utilizados dois níveis da enzima (0 e 360 g/ton) e quatro níveis de farelo de trigo (0, 4, 8 e 12%). Os autores concluíram que 4% foi o melhor nível de inclusão de farelo de trigo nas dietas de frangos de corte, obtendo dessa forma, o desempenho máximo quando a multienzima foi utilizada, além disso, o uso de multienzimas melhorou a conversão alimentar e aumentou do colesterol HDL (Lipoproteína de alta densidade).

Buscando investigar o efeito do farelo de trigo fino como fonte doadora de metila no desempenho, metabolismo, composição corporal e características sanguíneas de frangos de corte (Cobb 500®) machos em crescimento, de 8 a 28 dias de idade, Somensi et al. (2019) observaram que o uso do farelo de trigo fino reduziu a ingestão de ração, o que exerceu influência direta no ganho de peso dos animais. Os autores atribuíram as respostas obtidas ao maior teor de fibra e menor ingestão de energia metabolizável que as dietas proporcionaram e não recomendaram o uso do farelo de trigo fino como fonte doadora de radicais metila.

2.4. GRÃOS DE DESTILARIA

A industrialização e o aumento da população fizeram com que ocorresse elevação no uso de energia, sendo a maior parte do fornecimento de energia derivada de combustíveis fósseis não renováveis. O uso do bioetanol tem despertado interesse mundial, como biocombustível. A maior parte do etanol é produzida a partir do milho pelo processo de moagem a seco (Li et al., 2019). De acordo com Shad et al. (2021), o Serviço de Pesquisa Econômica do Departamento de Agricultura dos EUA, apresenta que aproximadamente 29% do milho produzido nos Estados Unidos foi utilizado para a produção de bioetanol. Com o rápido crescimento da indústria do etanol de milho, é gerada uma grande proporção de resíduos que podem ser usados na alimentação animal (Li et al., 2019).

Obtido da indústria do etanol, o grão seco de destilaria com solúveis (DDGS) de milho, tem sido utilizado com frequência na alimentação de frangos de corte, reduzindo os custos com a alimentação, o DDGS apresenta todos os componentes do grão integral exceto o amido, trazendo dessa forma os componentes fibrosos, lipídeos minerais e proteínas de forma concentrada (Babcock et al., 2008; Silva et al., 2016). A variabilidade na concentração de nutrientes entre as diferentes fontes do subproduto é a principal barreira que dificulta a sua utilização na dieta de aves, que variam de acordo com proporção de solúvel adicionado aos grãos (DDG), eficiência de conversão de amido em etanol, temperatura e tempo de secagem (Damasceno et al., 2020). Caldas et al. (2020) ao analisarem a composição química de DDGS obtidos em 8 destilarias encontraram variações entre os componentes nutricionais, entre 86,6 – 90,8 % matéria seca, 25,6 – 29,9 % proteína bruta, 5,9 – 8,9 % de fibra bruta, 0,0 – 6,4 % amido, 4,8 – 11,2% gordura bruta, 4223 – 4495 kcal/kg e 3,9 – 5,0% cinzas. Recentemente, o foco das investigações se voltou para o aumento do valor nutricional dos DDGS. Uma das maneiras mais convenientes de fazer isso é usar DDGS como matéria-prima para fermentação microbiana (Iram et al., 2020).

Damasceno et al. (2020), avaliaram os efeitos das taxas de inclusão de DDGS em dietas para frangos de corte de 0 a 21 dias, e seus efeitos sobre o desempenho, morfologia intestinal, metabólitos sanguíneos, carcaça e corte, produtividade e qualidade de carne. Foram utilizados 980 frangos e 7 dietas (0, 10, 40, 70, 100, 130 e 160 g de DDGS/kg). Ao final da pesquisa concluíram que os grãos de milho secos de destilaria com solúveis pode ser incluído em dietas para frangos de corte do dia 0 ao 21 em até 160 g DDGS/kg, sem acarretar efeitos negativos no desempenho de crescimento, rendimento de carcaça, rendimento e qualidade de carne.

2.5. SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA FRUTIFERA

Os subprodutos da indústria frutífera no geral, vem sendo amplamente estudados como componentes substituintes na alimentação animal, devido a presença de substancias que podem melhorar e otimizar a produção, além de ser uma forma de baratear o custo de produção aumentando o lucro dos produtores, além disso, apresenta-se como uma alternativa ao descarte de resíduos gerados que muitas vezes são descartados de forma errônea no meio ambiente (Banerjee et al., 2017).

Sosnówka-Czajka et al. (2023), avaliaram a adição de 3% de bagaço seco de maça, cereja e morango na produção e qualidade de carne de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, ao final do experimento foi constatado que a adição de 3% de bagaço seco de maça e cereja na ração das aves não afetou negativamente os de produção e qualidade de carne, mas o

bagaço de morango reduziu o peso corporal final das aves. O bagaço de cereja mostrou-se mais interessante uma vez que sua utilização melhorou a eficiência do abate, contribuiu para reduzir a perda por gotejamento dos músculos das pernas e apresentou o menor nível de gordura bruta nos músculos do peito.

Buscando investigar a influência da substituição parcial do milho pela polpa de alfarroba em pó na alimentação de frangos de corte Mahmoudi et al. (2022), avaliaram o desempenho, a microbiota intestinal e as características de carcaça e qualidade de carne das aves, foram utilizadas duas dietas: uma dieta controle com milho, farelo de soja e farelo de trigo e dietas de crescimento e final contendo 3% e 7% do pó da polpa de alfarroba. Os autores concluíram que a inclusão de 3% e 7% na ração de aves de corte em crescimento e terminação não teve impacto negativo no desempenho de crescimento e nas características de carcaça, pode melhorar a microbiota intestinal e a qualidade da carn, além de ter reduzido o teor de gordura e o índice de dieno conjugado e aumentar o teor de ácidos graxos poli-insaturados nas carnes de peito e coxa.

Ju et al. (2023), avaliaram a inclusão de duas formas da casca de maracujá na ração de frangos de corte, uma sem tratamento enzimático e outra com tratamento enzimático (celulase). No experimento 1 Foram utilizados 1.180 pintinho de um dia, machos, com três tratamentos, a dieta controle e 1 e 2% de adição de casca de maracujá sem tratamento enzimático, o ensaio durou 42 dias. O segundo experimento contou com 2.144 frangos, machos com 112 dias de idade, distribuído em três tratamentos um com ração controle, o segundo com a adição de 75 mg/kg de clortetraciclina e o terceiro com a adição de 3% de casca de maracujá tratada enzimaticamente, o ensaio durou 56 dias. Os autores concluíram que a inclusão de 3% de casca de maracujá tratada enzimaticamente afetou negativamente o consumo de ração e a adição de casca de maracujá sem tratamento enzimático não melhorou o desempenho das aves conforme o esperado. No entanto, ambos poderiam melhorar a atividade anti-inflamatória e as funções intestinais das aves, além de ter um bom efeito promotor da saúde atribuído ao seu conteúdo fibroso e compostos fenólicos.

Em outro estudo Gungor et al. (2021), avaliaram o efeito da utilização da semente de usava e da semente de uva fermentada no desempenho de crescimento, capacidade antioxidante e microbiota cecal em frangos de corte. Foram utilizadas 128 fêmeas divididas em quatro tratamentos, o T1: ração controle a base de milho e soja, T2: 0,15 g/kg da ração suplementada com antioxidante sintético (hidroxianisol butilado), T3: 5g/kg da ração suplementada com semente de uva e T4: 5g/kg da ração suplementada com semente de uva fermentada. E, concluíram que a semente de uva e a semente de uva fermentada podem ser utilizadas em dietas para frangos de corte como alternativa a antioxidantes sintéticos, a semente de uva melhora o desempenho de crescimento e a capacidade antioxidante e a semente de uva fermentada melhora o desempenho da microbiota intestinal das aves.

Outro experimento utilizando uva foi realizado por Nardoia et al. (2020), buscou avaliar a inclusão da casca de uva fermentada e não fermentada na ração de frangos de corte. As doses utilizadas foram, 30 g/kg de casca de uva fermentada e não fermentada e 60 g/kg de mesmas, houve também um tratamento com a inclusão de 200mg/kg de vitamina E. Os autores observaram que o desempenho das aves alimentadas com casca de uva fermentada ou não, diminuiu, além de ser observada uma redução na digestibilidade ileal da proteína no grupo alimentado com casca de uva fermentada principalmente quando a inclusão foi de 60 g/kg. Houve aumento no teor de polifenóis no íleo e nas excretas das aves alimentadas com principalmente com a casca da uva fermentada. A *inclusão de casca*

de uva fermentada reduziu a contagem ileal de Escherichia coli. Além disso, os autores observaram que após 7 dias de armazenamento refrigerado, a oxidação lipídica da carne de frango foi menor com o uso de 60 g/kg de casca de uva nas dietas, no entanto, os valores obtidos se assemelharem à oxidação lipídica da carne oriunda das aves suplementadas com vitamina E.

Paraboli et al. (2024), avaliaram o impacto da utilização de pó da semente de *Citrus sinensis* (laranja doce), na alimentação de frangos de corte e avaliaram o desenvolvimento morfológico e histológico do intestino delgado. Foram utilizados para esse experimento aves da linhagem Cobb com 480 dias de idade, divididos em quatro grupos, o controle alimentado com dieta padrão e os demais alimentados com a inclusão de 0,25%, 0,5% e 0,75% do pó da semente de *Citrus sinensis.* Ao final concluíram que uma dieta com 0,5 e 0,75% de pó da semente de *Citrus sinensis* na dieta melhora o ganho de peso e eficiência alimentar, além disso as mesmas proporções apresentaram melhora no desenvolvimento intestinal das aves.

2.6. RESIDUO DE ORIGEM ANIMAL

O uso de resíduos obtidos das indústrias de processamento animal é um potencial fonte proteica e energética, bem como fontes de macro minerais como o cálcio, para ser incluída na dieta de frangos de corte, sendo uma alternativa ao uso dos ingredientes que também são destinados ao consumo humano como o milho e a soja, acarretando no barateamento dos custos com alimentação e rentabilidade dos produtores (Sung et al., 2020; Choi et al., 2021).

Kim et al. (2020), determinaram as concentrações de energia metabolizável e a digestibilidade de aminoácidos de vários subprodutos de incubação, sendo eles, ovos inférteis (OI), ovos não eclodidos (ONE), pintinhos de baixo grau ou mortos (PBGM) e casca de ovos eclodidas (COE). No experimento um foram utilizadas 40 aves fêmeas com 60 dias de idade e os tratamentos consistiam na dieta controle, composta por milho, farelo de soja, óleo de milho e outros ingredientes não energéticos, e quatro dietas contente 10% de OI, ONE, PBGM e COE e uma dieta com um mix de (55% OI, 10% ONE, 10% PBGM e 25% COE). O experimento dois utilizou 716 pintinho de 1 dia de idade de ambos os sexos, nesses grupos foram avaliadas digestibilidade e digestibilidade ileal padronizada de aminoácidos em subprodutos de incubatório. Para esses grupos as dietas consistiam em uma dieta se nitrogênio e quatro dietas contendo OI, ONE, PBGM e COE como única fonte de aminoácidos. Ao final os autores concluíram que os PBGM possuem maiores concentrações de energia metabolizável e digestibilidade de aminoácidos entre os demais subprodutos, já o mix tem relativamente menos concentrações de energia metabolizável e digestibilidade de aminoácidos para frangos de corte. Sendo assim os resultados apontaram que subprodutos de incubatório e suas misturas (mix) são potenciais ingredientes proteicos para frangos de corte.

Shabani et al., (2021), investigaram o efeito das concentrações de silagem de resíduos de peixe na dieta de frangos de corte sobre o desempenho de crescimento, população microbiana intestinal e morfologia intestinal. Os resíduos foram fermentados com 15 g/kg de melaço de *Lactobacillus plantarum* (PTCC1058) e *Aspergillus oryzae* (PTCC5163). Foram utilizados 240 pintinhos machos de 1 dia de idade, distribuídos em 5 tratamentos: uma dieta controle à base de milho e farelo de soja e quatro dietas experimentais contendo 30, 60, 90 e 120 g de SRP/kg de ração. Ao final concluíram que a conversão alimentar melhorou de forma significativa à medida que a inclusão de SRP aumentou aos

42 dias, fígado (g/100g de peso corporal e bactérias ácido lácticas aumentou significativamente e a população de coliformes no íleo diminuiu com o aumento da concentração de SRP na dieta. A substituição do farelo de soja pela silagem de resíduos de peixe aumentou significativamente a relação altura das vilosidades e profundidade das criptas no jejuno. Dessa forma a utilização de silagem de resíduo de peixe pode ser considerada uma fonte alternativa adequada de proteína para substituir o farelo de soja na dieta de frangos de corte.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diversos ingredientes podem ser usados como alimento alternativo na dieta de frangos de corte, visando reduzir os custos com a alimentação, mas buscando ofertar todos os nutrientes necessários requeridos para o bom desenvolvimento produtivo do animal. Assim, estudos relacionados ao uso de resíduos agroindustriais na alimentação de frangos de corte são necessários e pertinentes.

REFERÊNCIAS

[1] ABBAS, B. A. Traditional and non-traditional feeds in poultry feeding: a review. **Radinka Journal of Science and Systematic Literature Review**, v. 1, n. 2, p. 111-127, 2023.

[2] AMORIM, A. F.; SILVA, G. F.; RODRIGUES, K. F.; SOUSA, J. P. L.; SOARES, J. A. R. Subprodutos utilizados na alimentação de frangos de corte. **PubVet**, v. 9, p. 195-251, 2015.

[3] ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A.; FILHO, A. B. Avaliação do valor energético dos alimentos. In: _____. **Nutrição animal: As bases e os fundamentos da nutrição animal - Os alimentos**. 1. ed. São Paulo: Nobel, 2002. cap 7, p.256 – 268.

[4] ATTIA, Y. A.; ASHOUR, E. A.; NAGADI, S. A.; FARAG, M. R.; BOVERA, F.; ALAGAWANY, M. Rice bran as na alternative feedstuff in broiler nutrition and impact of liposorb® and vitamin E-SE on sustainability of performance, carcass traits, blood biochemistry, and antioxidant indices. **Veterinary Science**, v. 10, e299, 2023.

[5] BANERJEE, J.; RAMKRISHNA, S.; VIJAYARAGHAVAN R.; MACFARLANE, D.; PATTI, A. F.; ARORA, A. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. **Food chemistry**, v. 225, p. 10-22, 2017.

[6] BEAULIEU, J. C.; MOREAU, R. A.; POWELL, M. J.; OBANDO-ULLOA, J. M. Lipid profiles in preliminary germinated brown rice beverages compared to non-germinated brown and white rice beverages. **Foods**, v. 11, e220, 2022.

[7] BERWANGER, E., NUNES, R. V., OLIVEIRA, T. M. M., BAYERLE, D. F., BRUNO, L. D. G. Performance and carcass yield of broilers fed increasing levels of sunflower cake. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 1, p. 201 – 212, 2017.

[8] BERWANGER, E.; NUNES, R. V.; PASQUETTI, T. J.; MURAKAMI, A. E., OLIVEIRA, T. M. M.; BAYERLE, D. F.; FRANK, R. Sunflower cake with or without enzymatic complex for broiler chickens feeding. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 3, e410, 2016.

[9] CALDAS, J. V.; HILTON, K.; MULLENIX, G.; XUEMEI, D.; ENGLAND, J. A.; COON, C. N. Corn distillers dried grains with solubles: nutrient analysis, metabolizable energy, and amino acid digestibility in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 29, p.1068–1083, 2020.

[10] CANCHERINI, L. C.; DUARTE, K. F., JUNQUEIRA, O. M., FILARDI, R. S., LAURENTIZ, A. C.; ARAÚJO, L. F. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo subprodutos do arroz formuladas com base nos conceitos de proteína bruta e ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 616-623, 2008.

[11] CHOI, W. J.; KIM, J. H., HAN, G. P., KWON, C. H., KI, D. Y. Effects of dietary hatchery by-products on growth performance, relative organ weight, plasma measurements, immune organ index, meat quality,

and tibia characteristics of broiler chickens. **Animal bioscience**, v. 34, n. 7, p. 1181, 2021. https://doi.org/10.5713/ab.20.07

[12] CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento**. Mercado impulsiona produção de trigo que atinge novo recorde com mais de 9 milhões de toneladas**. 2022. Disponível em: https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4850-mercado-impulsiona-producao-de-trigo-que-atinge-novo-recorde-com-mais-de-9-milhoes-de-toneladas

[13] COSTA JR, J. F.; SILVA, M. R.; PINHEIRO, M. S. M.; SILVA, G. M. A.; SILVEIRA, R. K.; FREIRIA, L. B.; SANTOS, C. M. S. Avaliação da torta de girassol na alimentação de frangos de corte semicaipira. **Scientific Electronic Archives**, v. 8, p. 81-85, 2015.

[14] DAMASCENO, J. L.; ROCHA C. S.; EYNG, C.; BROCH, J.; SOUZA, C.; WACHHOLZ, L.; CIRILO, E. H.; AVILA, A. S.; PIRES FILHO, I. C.; NUNES, R. V. Effect of feeding dried distillers' grains with solubles to broiler chickens from day 0 to 21. **Livestock Science**, v. 241, e104232, 2020.

[15] FAO. **Food and Agriculture Organization- Rice production, utilization and stocks. Market sumaries.** 2024. Disponível em: https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/7116b9f0-896c-4dac-b4ca-8f3a51212efa/content

[16] GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Carbohydrases and phytase with rice bran, effects on amino acid digestibility and energy use in broiler chickens. **Animal**, v. 14, n. 3, p. 482-490, 2020.

[17] GOPINGER, E.; KRABBE, E. L.; AVILA, V. S.; SUREK, D.; LOPES, L. S. Stabilization of rice bran in broiler feed with natural and synthetic antioxidants and heat treatment. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 21, n. 4, p. 001-008, 2019.

[18] GUNGOR, E.; ALTOP, A.; ERENER, G. Effect of raw and fermented grape seed on growth performance, antioxidant capacity, and cecal microflora in broiler chickens. **Animal**, v. 15, n. 4, e100194, 2021.

[19] IDAN, F.; PAULK, C. B.; POKOO-AIKINS, A., STARK, C. R. Growth performance, intestinal morphometry, and blood serum parameters of broiler chickens fed diets containing increasing levels of wheat bran with or without exogenous multi-enzyme supplementation during the grower and finisher phases. **Livestock Science**, v. 275, e105296, 2023.

[20] IRAM, A.; CEKMECELIOGLU, D.; DEMIRCI, A. Distillers' dried grains with solubles (DDGS) and its potential as fermentation feedstock. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 6115–6128, 2020.

[21] JU, Y.; HUANG, L. L.; LUO, H. L.; HUANG, Y. C.; HUANG, X. Y.; CHEN, G.; GUI, J.; LIU, Z. L.; YANG, L., LIU, X. Z. Passion fruit peel and its zymolyte enhance gut function in Sanhuang broilers by improving antioxidation and short-chain fatty acids and decreasing inflammatory cytokines. **Poultry Science**, v. 102, n. 6, e102672, 2023.

[22] KALMENDAL, R.; ELWINGER, K.; HOLM, L.; TAUSON, R. High-fibre sunflower cake affects small intestinal digestion and health in broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 86-96, 2011.

[23] KIM, J. H.; CHOI, H. S.; CHOI, W. J.; KIM, H. W.; KIL, D. Y. Determination of metabolizable energy and amino acid digestibility in various hatchery byproducts for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 101, n. 1, e101544, 2022.

[24] LAMID, M.; AL-ARIF, M. A.; AMIN, M.; WARSITO, S. H. Decreasing triglyceride, LDL-c and increasing HDL-c contents in broiler meat by partial replacement of commercial feed with fermented rice bran and turmeric flour. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, e101450, 2020.

[25] LI, C.; STUMP, M.; WU, W.; LI, Y. Exploring the chemical composition, antioxidant potential, and bread quality effects of the nutritional powerhouse: Wheat bran – A mini-review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v.14, e100898, 2023.

[26] LI, X.; CHEN, S.; YU, Y.; WANG, S.; XU, Z.; HUANG, H.; JIN, M. Ethanol production from mixtures of distiller's dried grains with solubles (DDGS) and corn. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 59-66, 2019.

[27] MAHMOUDI, S.; MAHMOUDI, N.; BENAMIROUCHE, K.; ESTEVEZ, M.; MUSTAPHA, M. A.; BOUGOUTAIA, K.; DJOUDI, N. E. H. B. Effect of feeding carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp powder to broiler chicken on growth performance, intestinal microbiota, carcass traits, and meat quality. **Poultry Science**, v.

101, n. 12, p. 102186, 2022.

[28] NARDOIA, M.; ROMERO, C.; BRENES, A.; ARIJA, I.; VIVEROS, A.; RUIZ-CAPILLAS, C.; CHAMORRO, S. Addition of fermented and unfermented grape skin in broilers' diets: Effect on digestion, growth performance, intestinal microbiota and oxidative stability of meat. **Animal**, v. 14, n. 7, p. 1371-1381, 2020.

[29] OLIVEIRA, D. D.; PINHEIRO, J. W.; FONSECA, N. A. N.; OBA, A. Desempenho de frangos de corte alimentados com torta de girassol. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1979-1990, 2012.

[30] PAROBALI, T.; ADJEI-MENSAH, B.; SONGUINE, T.; YARKOA, T.; KAROU, S. D., EKLU-GADEGBEKU, K. Influence of Citrus sinensis seed powder on growth performance, morphological and histological development of the small intestine of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 33, n. 2, p. 100395, 2024.

[31] PETRARU, A.; URSACHI, F.; AMARIEI, S. Nutritional characteristics assessment of sunflower seeds, oil and cake. perspective of using sunflower oilcakes as a functional ingredient. **Plants**, v. 10, e2487. 2021.

[32] PIRES, J. L. F. **Cultivo de Trigo. Sistema de Produção**, 4. 2. ed. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, 2014.

[33] RUFINO, J. P. F.; CRUZ, F. G. G.; TANAKA, E. S.; MELO, R. D.; FEIJÓ, J. C. Economic analysis of the inclusion of buriti residue in feeding commercial laying hens. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, p. 732-738, 2017.

[34] SAKAMOTO, K. S.; BENINCASA, N. C.; SILVA, I. J. O.; LOBOS, C. M. V. The challenges of animal welfare in modern Brazilian poultry farming. **Journal of Animal Behavior Biometeorology**, v. 8, p. 131-135, 2020.

[35] SCHMIDT, N. S.; SILVA, C. L. Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, p. 467-482, 2018.

[36] SHABANI, A.; BOLDAJI, F.; DASTAR, B.; GHOORCHI, T.; ZEREHDARAN, S.; ASHAYERIZADEH, A. Evaluation of increasing concentrations of fish waste silage in diets on growth performance, gastrointestinal microbial population, and intestinal morphology of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, e114874, 2021.

[37] SHAD, Z. M.; VENKITASAMY, C.; WEN, Z. Corn distillers dried grains with solubles: Production, properties, and potential uses. **Cereal Chemistry**, v. 98, p. 999–1019, 2021.

[38] SOMENSI, M. L.; MONTEIRO, A. N. T. R.; MARX, F. R.; BOCKOR, L.; VIEIRA, M. S.; KESSLER, A. M. Can the fine wheat bran be a betaine source in poultry diets? **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 21, n.1, p. 001-008, 2019.

[39] SOSNÓWKA-CZAJKA, E.; SKOMORUCHA, I.; OBREMSKI, K.; WOJTACHA, P. Performance and meat quality of broiler chickens fed with the addition of dried fruit pomace. **Poultry Science**, v. 102, n. 6, e102631, 2023.

[40] SOUZA, D. H.; GOMES, T. R.; NEPOMUCENO, R. C.; ALENCAR, A. V. O.; COSTA, M. K. O.; FREITAS, E. R. Sunflower cake in the diets of light weight laying pullets: Effects on the growth phase and the beginning of production cycle. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 46, e004822, 2022.

[41] SOUZA, R. G.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Produção de trigo no Brasil Análise de políticas econômicas e seus impactos. **Revista de Política Agrícola**, v. 30, n. 2, p. 45-61, 2021.

[42] SUNG, J. Y.; JI, S. Y.; KIM, B. G. Amino acid and calcium digestibility in hatchery byproducts fed to nursery pigs. **Animal feed science and technology**, v. 270, p. 114703, 2020.

[43] TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E.; CHAN, L. C. Rice bran: from waste to nutritious food ingredients. **Nutrients**, v. 15, e2503, 2023.

[44] UTTAM, A. N.; PADTE, S.; G. RAJ, J. V.; GOVINDARAJU, K.; KUMAR, S. Isolation, characterization, and utilization of wheat bran protein fraction for food application. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 464–473, 2023.

[45] VASUDHA, C.; SARLA, L. Nutritional quality analysis of sunflower seed cake (SSC). **The Pharma Innovation Journal**, v. 10, n. 4, p. 720-728, 2021.

[46] YAN X.; LIU, C.; HUANG, A.; CHEN, R.; CHEN, J.; LUO, S. The nutritional components and physicochemical properties of brown rice flour ground by a novel low temperature impact mil. **Journal of**

Cereal Science, v. 92, e102927, 2020.

[47] YEH, R. H.; HSIEH, C. W.; CHEN, K. L. Screening lactic acid bacteria to manufacture two-stage fermented feed and pelleting to investigate the feeding effect on broilers. **Poultry Science**, v. 97, n. 1, p. 236-246, 2018.

[48] ZHANG, A. R.; Wei, M.; Yan, L.; Zhou, G. L.; Li, Y.; Wang, H. M.; Yang, Y. Y.; Yin, W.; Guo, J. Q.; Cai, X. H.; Li, J. X.; Zhou, H.; Liang, Y. X. Effects of feeding solid-state fermented wheat bran on growth performance and nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 101, n. 1, e101402, 2022.

[49] ZHANG, Y. C.; LUO, M.; FANG, X. Y.; ZHANG, F. Q.; CAO, M. H. Energy value of rice, broken rice, and rice bran for broiler chickens by the regression method. **Poultry Science**, v. 100, n. 4, e100972, 2021.

Capítulo 6

Obtenção de vinagre de cevada a partir do resíduo de fermentação da indústria cervejeira

Valentina Signor Montovaneli
Guilherme Grigolo Kielb
Janayne Sander Godoy
Creciana Maria Endres
Rubieli Carla Frezza Zeferino
Micheli Zanetti

Resumo: A produção global de vinagre, muitas vezes utiliza matérias-primas baratas e subprodutos alimentares, e tem crescido em variedades como vinagre de frutas ou malte, tendo estes uma composição mais complexa se comparados ao vinagre oriundo do vinho. O Decreto-Lei n° 174/2007 regulamenta as características do vinagre para consumo humano, definindo-o como resultado da fermentação alcoólica e acética de produtos agrícolas, com limites específicos para teor de etanol, ácido acético e pH. A indústria de cerveja, se destaca no ramo industrial devido ao crescimento apresentado nos últimos anos, tendo no Brasil 1847 cervejarias registradas no ano de 2023, e deste montante, aproximadamente 39,6% se concentra na região sul, estando 225 cervejarias instaladas no estado de Santa Catarina. Uma possibilidade para a produção de vinagre é a utilização do álcool gerado na produção de cerveja. Portanto, este capítulo tem como objetivo apresentar um estudo da produção e caracterização de vinagre obtido através da acidificação do álcool gerado na fermentação do malte de cevada, utilizando um processo submerso, o qual baseia-se em manter as bactérias acéticas imersas na matéria-prima a ser acidificada. Como forma de validação do processo, foram realizadas análises de caracterização ao fim das etapas fermentativas, sendo estas fermentação alcoólica, com duração de 10 dias em temperatura constante de 18 ± 2°C e a segunda fermentação chamada de acética cuja duração foi de 3 dias a 25 ± 2°C. Foram realizadas as análises de caracterização requeridas pela legislação brasileira para o vinagre. Os resultados indicaram que o fermentado acético de malte produzido apresentou características dentro dos requisitos exigidos, apresentando extrato aparente 3,98 ± 0,04 °Brix, álcool de 3,79% ± 0,05% (v/v), turbidez de 40,46 ± 2,00 NTU, cor 3,30 ± 0,07 EBC, pH de 3,46 ± 0,01 e acidez titulável 9,66% ± 0,58%. Portanto, conclui-se que o vinagre obtido a partir do álcool gerado na produção de cerveja atende aos requisitos estabelecidos pela legislação brasileira para a classificação de vinagre. Essa abordagem demonstra uma alternativa viável para a utilização de subprodutos da indústria cervejeira, contribuindo para a redução do desperdício e aproveitamento de recursos, tornando o processo sustentável.

Palavras-chave: vinagre de malte, cerveja, fermentação alcoólica, fermentação acética.

1. INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas mais antigas e extremamente conhecidas no mundo. Historiadores sugerem que sua origem remonta a cerca de 8.000 aC, coincidindo com os primeiros cultivos de cereais na Ásia, onde grãos como milho, centeio e cevada eram fermentados. Devido ao seu valor nutricional semelhante ao dos cereais, a bebida já foi apelidada de “pão líquido” (Lima; Filho, 2011).

No Brasil, a cerveja foi introduzida pelos portugueses em 1808, mas o seu consumo não foi incentivado, já que eles preferiam promover os vinhos que exportavam, mais populares na época. Inicialmente, a produção de cerveja era artesanal e restrita ao consumo de imigrantes. No entanto, com a abertura dos portos e a chegada da corte portuguesa, as cervejas importadas ganharam popularidade, o que impulsionou o início da produção da bebida no país (Andrade, 2007; Feistauer, 2016). Atualmente o Brasil possui cerca de 1847 cervejarias registradas no ano de 2023, e deste montante, aproximadamente 39,6% concentram-se na região Sul, estando 225 cervejarias instaladas no estado de Santa Catarina (Brasil, 2024).

Entre os diversos tipos de cerveja produzidos e consumidos globalmente, o que mais se destaca é a Pilsen (Gabriel; Souza; Andrade, 2017), conhecida por sua cor clara, baixo teor de lúpulo, fermentação em baixa temperatura e teor alcoólico moderado (Feistauer, 2016).

Assim como a cerveja, uma bebida alcoólica fermentada, o vinagre foi descoberto de maneira simultânea, devido à semelhança nos processos de produção de ambos. Seu nome deriva do francês "vinaigre", que significa "vinho azedo", e é reconhecido com variações semelhantes em quase todas as línguas (Aquarone *et al.,* 2001).

O Decreto-Lei nº 174/2007, datado de 8 de maio, estabelece as características e a classificação do vinagre destinado ao consumo humano, além de definir as regras para seu acondicionamento e rotulagem. De acordo com a legislação, o vinagre é descrito como um “produto obtido exclusivamente por meio do processo biológico de dupla fermentação, obtido e acético, de produtos de origem agrícola”. Assim, determina-se que o teor de etanol em vinagres não deve ultrapassar 0,5% (v/v), deve conter, no mínimo, 4% de ácido acético e apresentar um valor de pH entre 2 e 3,5 (Hutkins, 2018).

Atualmente, há uma ampla variedade de vinagres produzidos em todo o mundo, e a maioria deles são elaborados a partir de materiais primários acessíveis, incluindo subprodutos do processamento de alimentos, frutas de qualidade inferior, excedentes agrícolas e desperdícios de frutas (Hutchinson *et al.*, 2019). Observa-se que os vinagres feitos a partir de frutas ou malte apresentam uma composição mais complexa do que o vinagre de vinho, pois contém praticamente todas as substâncias solúveis presentes na matéria-prima ou que se formaram durante os processos.

O vinagre pode ser obtido por meio de dois processos bioquímicos principais, que envolvem a ação de microrganismos para realizar a fermentação alcoólica com o auxílio de fermentos. Normalmente, utilizam-se espécies do gênero *Saccharomyces*, por exemplo *Bactéria Acetobacter* (Martins, 2021; Pedrosa *et al.*, 2009).

A transformação do álcool em ácido acético permite a preservação dos aromas provenientes da matéria-prima, conferindo um sabor único a cada tipo de vinagre (Pedrosa *et al*., 2009). Um exemplo de vinagre de cereal que possui características de sabor e aroma distintos é o vinagre de malte, que tem sido utilizado como condimento desde o século XVII. O termo "malte" refere-se a grãos de cevada que foram germinados.

Após a malteação da cevada, ela pode ser submetida ao processo fermentativo, semelhante ao utilizado na produção (IVANOV, 2011).

Diante do crescente interesse por processos sustentáveis e a busca por soluções que minimizem o desperdício de recursos, a utilização de subprodutos da indústria cervejeira para a produção de vinagre surge como uma alternativa promissora. O aproveitamento do álcool gerado durante a produção de cerveja artesanal não apenas contribui para a valorização de resíduos, como também promove a produção de um vinagre de malte com características sensoriais e nutricionais únicas. Esse processo alia inovação e sustentabilidade, elementos fundamentais no cenário atual da indústria alimentícia, que busca cada vez mais soluções economicamente viáveis e ambientalmente responsáveis.

Com base nesse contexto, este capítulo traz informações importantes de um estudo de produção de vinagre a partir de álcool de cerveja, que visa contribuir para o avanço do conhecimento sobre a produção de vinagre de malte, avaliando suas propriedades físico-químicas e seu potencial de conformidade com os padrões exigidos pela legislação brasileira. A partir da fermentação alcoólica e acética, busca-se demonstrar a viabilidade técnica e qualitativa do vinagre obtido, reforçando a importância de estratégias que integrem práticas sustentáveis na indústria de bebidas e alimentos.

1.1. FERMENTAÇÃO ACÉTICA

O processo de transformação do álcool em ácido acético é denominado fermentação acética e é realizado por bactérias acetificadoras. Essas bactérias estão presentes em um grupo de grande interesse econômico, justamente por sua função de produzir o ácido acético e por conseguir provocar alterações em alimentos e bebidas (Aquarone *et al*., 2001; IVANOV, 2011).

Para o processo fermentativo a temperatura que melhor favorece está entre 25 °C e 30 °C, sendo que as Acetobacter são inibidas a temperaturas inferiores a 8 ºC e degradadas a temperaturas superiores a 35 °C. Apesar disso, são capazes de desenvolver mecanismos de defesa contra o estresse térmico, e chegam a aguentar temperaturas de até 40 °C (Costa, 2014).

As bactérias responsáveis pela acetificação demandam de oxigênio proveniente do ar para realizar a fermentação. Por isso, sua multiplicação é mais comum na parte superior do vinho que está sendo transformado em vinagre, formando uma camada (véu) conhecida como “mãe do vinagre”. Podendo ser um véu mais ou menos espesso, dependendo do tipo de bactérias utilizado no processo (Aquarone *et al.*, 2001).

1.2. LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

De acordo com a instrução normativa nº 6, de 3 de abril de 2012 o decreto brasileiro nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de fermentados acéticos. Para os fermentados acéticos de cereal, o Art. 7º desta Instrução Normativa indica o anexo IV como parâmetro, que deverá apresentar as seguintes características representadas neste trabalho no Quadro 1:

Quadro 1 - Concentrações dos componentes de fermentados acéticos estabelecidas pela legislação brasileira

PARÂMETROS	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO
Acidez volátil em ácido acético (g/100ml)	4,00	-
Álcool (% v/v) a 20 °C	-	1,00

Fonte: Adaptado de ANAV (2012).

A mesma instrução normativa ainda prevê características sensoriais necessárias para atender a classificação de fermentados acéticos de cereais. Os mesmos são apresentados neste trabalho no Quadro 2.

Quadro 2 - Característica sensorial dos fermentados acéticos estabelecidas pela legislação brasileira

PARÂMETRO	CARACTERÍSTICAS
Aspecto	Ausência de elementos estranho Ausência de elementos estranhos à sua natureza e composição
Cheiro	Característico
Sabor	Ácido
Cor	De acordo com a matéria-prima de origem e composição

Fonte: Adaptado de ANAV (2012).

Presente na legislação, o aspecto do vinagre deve ser de, ausência de elementos estranhos à sua natureza e composição, cheiro característico, sabor ácido e coloração de acordo com a matéria-prima de origem e composição (Ministérioda Agricultura, 2012).

De acordo com a matéria-prima que deu origem ao vinagre, sendo esta originária de uvas, é possível classificar em vinagre de vinho tinto ou de vinho branco. Os produtos formados através da fermentação acética de outros líquidos alcoólicos serão denominados fermentados acéticos, podendo utilizar da palavra vinagre no rótulo, desde que continuado da matéria-prima utilizada no processo. Exemplos: vinagre de maçã, vinagre de álcool, vinagre de malte entre outros (Aquarone *et al.*, 2001).

1.3. PROCESSO FERMENTATIVO SUBMERSO

Este processo consiste nas bactérias acéticas se encontrarem em total submersão no líquido a ser fermentado, diferentemente de outros processos onde elas ficam presente maioritariamente na parte superior do fermentador. Para catalisar a reação de oxidação

da mistura de álcool e vinagre, o oxigênio deve ser bem controlado em todos os pontos do compartimento (Spinosa, 2002).

O reator geralmente possui grandes dimensões, conseguindo armazenar grandes quantidades da matéria-prima a ser acetificada, constituído de aço inoxidável, contém uma turbina de ar no fundo e tubos que circulam água para refrigeração, funcionando de forma automática. Ao entrar no reator, o ar deve ser disperso de forma homogênea em todo o caldo a ser fermentado, quanto menor forem as bolhas melhor se dará o processo. Para a produção de vinagre a base de vinho, quando o mesmo no reator alcança cerca de 0,2% v/v de álcool, que geralmente se dá em intervalos de 30 a 40 horas, retira-se aproximadamente de 40% a 45% do volume de vinagre que é substituído pelo mesmo volume de vinho a acetificar (IVANOV, 2011).

Este processo é considerado de alta eficiência e mais rápido quando comparado aos processos tradicionais de fermentação. As perdas por evaporação são reduzidas para cerca de 3% a 5%, não necessita de material de recheio e, consequentemente, não necessitando de tanta manutenção. Podendo ainda ser um processo totalmente automatizado para a carga e descarga do reator e controle de temperatura (Meneguzzo; Rizzon, 2009).

2. METODOLOGIA

2.1. ELABORAÇÃO DO VINAGRE DE MALTE

O fermentado acético de cereal foi obtido através da metodologia submersa e na sequência foi engarrafado no laboratório de tecnologia de alimentos da Universidade Comunitária da Região de Chapecó - Unochapecó. Para o processo de fabricação do fermentado acético, foram realizadas duas fermentações, alcoólica e acética, realizadas em um tanque de fermentação laboratorial. A fermentação alcoólica durou 10 dias a 18 ± 2°C, utilizando como substrato a glicose do mosto fermentativo. Em seguida foi adicionado às bactérias de acidificação do gênero *Acetobacter*, que utilizaram como substrato o álcool gerado na primeira etapa fermentativa. A acidificação do composto alcoólico ocorreu em 3 dias a 25 ± 2°C. Estas condições foram escolhidas para otimizar a produção do fermentado acético e garantir conformidade com as normas regulatórias brasileiras.

2.2. DETERMINAÇÃO DE pH

O pHmetro (marca: Quimis; modelo: Q400MT) foi utilizado para determinar o valor do pH durante o processo de acidificação, de fermentação e também do produto pronto. O equipamento foi calibrado usando duas soluções-tampão, conforme as instruções do fabricante. Após, 50 mL da amostra, o suficiente para cobrir o eletrodo, foram transferidas para um becker de 100 mL, aferido o pH e anotado o resultado. A análise foi realizada em triplicata (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

2.3. DETERMINAÇÃO DO EXTRATO (ºBRIX)

Durante o processo de acidificação e fermentação, o extrato foi acompanhado com o auxílio do refratômetro (marca: Kiltler), segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Realizou-se a mensuração instantânea da concentração de açúcar em solução

aquosa através do índice de refração, onde que o decréscimo do mesmo indica que o processo fermentativo está conforme. A análise foi realizada em triplicata.

2.4. DETERMINAÇÃO DE COR

Para a verificação da intensidade da cor, foi utilizado o método espectrofotométrico 8.5 da European Brewery Convention (EBC, 2005), com o auxílio do espectrofotômetro (marca: Phox; modelo: UV 12 (190-1020 nm)). As amostras foram primeiramente descarbonatadas e então diluídas na proporção de 1:1 (5 mL de água destilada e 5 mL da amostra) e em seguida realizada a leitura da absorbância a 430 nm, com o uso de uma cubeta de quartzo de 10 mm. O resultado da cor foi expresso usando a Equação 01, onde A é a absorbância e f é o fator de diluição, que nesse caso, é 2.

$$COR\ (EBC)\ =\ A\ x\ 25\ x\ f \qquad Eq.(01)$$

2.5. DETERMINAÇÃO DE TURBIDEZ

Para essa análise, foi utilizado um turbidímetro (marca: Akso; modelo: TU430), calibrado com água ultrafiltrada, conforme instruções do fabricante. As amostras foram transferidas para um compartimento próprio do equipamento, e mensurada a turbidez, onde o resultado foi expresso em NTU (Unidades de Nefelométricas de Turbidez) (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

2.6. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL

A acidez foi realizada em triplicata, sendo preparada uma solução contendo 5 mL de amostra em um Erlenmeyer de 125 mL e 50 mL de água destilada com 3 gotas de solução fenolftaleína. Em seguida foi realizada a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até obter uma coloração rósea. Para calcular o percentual de acidez, foi utilizada a Equação 02 (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

$$\frac{V \times f \times 100}{P \times c} = acidez\ em\ porcentagem \qquad Eq.(02)$$

V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 M gasto na titulação

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01

P = nº de g da amostra usado na titulação

c = correção para solução de NaOH 1 M, 10 para solução NaOH 0,1 M.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises mostraram que o fermentado acético produzido a partir do malte atendeu, com ressalvas, aos requisitos legais brasileiros, com parâmetros de teor alcoólico, pH, e acidez titulável cabíveis com a legislação. A formulação da cerveja a ser acidificada neste estudo pode ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação otimizada do vinagre de cevada

FORMULAÇÃO	
INSUMOS	QUANTIDADES
Água mostura	85 L
Sufalto de cálcio (mostura)	0,93 g
Cloreto de cálcio (mostura)	0,73 g
Ácido lático (mostura)	2,3 mL
Malte pilsen	2,5 kg
água lavagem	7,5 L
Sufato de sódio (fervura)	0,56 g
Cloreto de cálcio (fervura)	0,44 g
Ácido lático (fervura)	2,4 mL
Levedura US-05	8 g

Fonte: os Autores, 2024.

Os parâmetros avaliados tiveram bons resultados, como teor alcoólico de 3,79% ± 0,05%, pH de 3,54 ± 0,4 e acidez titulável de 9,66% ± 0,58%, visualizados na Tabela 2. Esses resultados confirmam a viabilidade de utilizar subprodutos da indústria cervejeira na produção de vinagre. Resultados similares foram reportados por Costa (2014), que observou uma acidificação excessiva quando a fermentação acética não foi adequadamente controlada, principalmente em termos de aeração e tempo. Para mitigar esse problema, Ivanov (2011) sugere que o monitoramento constante da taxa de conversão de álcool em ácido acético é essencial para evitar a produção excessiva de acidez e garantir um vinagre de qualidade. O pH obtido de 3,54 ± 0,4 está dentro dos parâmetros exigidos pela legislação (entre 2 e 3,5), o que está em concordância com os resultados encontrados por Aquarone *et al.* (2001), que também observaram que o controle preciso do pH durante o processo fermentativo é fundamental para garantir um produto final com as características sensoriais e químicas adequadas.

Tabela 2 - Caracterização do vinagre

PARÂMETROS	VINAGRE
° Brix	3,98 ± 0,04
Álcool (%v/v)	3,79 ± 0,05
pH	3,46 ± 0,01
Cor (EBC)	3,30 ± 0,07
Turbidez (NTU)	40,46 ± 2,00
Acidez titulável (%)	9,66 ± 0,58

Fonte: os Autores, 2024.

A legislação prevê um valor máximo de 1,0% (v/v) do teor alcoólico para o vinagre. O resultado obtido para o fermentado acético de malte produzido neste trabalho, foi de valor de 3,79% ± 0,05% (v/v) o que ultrapassa em 2,79 pp (v/v) do permitido. Isso se dá pelo fato que a batelada foi finalizada antes que houvesse o consumo ideal deste álcool que seria convertido durante a etapa final da fermentação acética. Estudos semelhantes, como o de Pedrosa *et al*. (2009), indicam que a fermentação alcoólica e acética pode ser ajustada através de um controle mais rigoroso do tempo e das condições de fermentação, para garantir que o álcool seja totalmente convertido em ácido acético. Martins (2021) também destaca a importância da otimização dos tempos de fermentação para aumentar a eficiência do processo e evitar a permanência de álcool no produto final.

Para ser um fermentado acético de acordo com a legislação, o mesmo deve ter um teor de ácido acético de no mínimo 4%. Com o processo realizado no estudo, foi obtido teor de ácido acético equivalente a 9,66 ± 0,58%, ultrapassando em 4,66 pp o valor mínimo, o que indica um eficiente processo de acidificação. O pH obtido de 3,54 ± 0,4 está dentro dos limites regulamentados para vinagres (entre 2 e 3,5), o que demonstra que o controle do processo foi adequado para manter a acidez dentro do intervalo aceitável.

Trabalhos realizados por Ozturk (2015) concluíram que o °Brix indica a percentagem de sólidos solúveis incluindo açúcares, sais e proteínas numa amostra líquida. Portanto o °Brix, representa a percentagem de um resíduo seco solúvel e é um parâmetro que se altera em função do tipo de vinagre (Sengun *et al.*, 2020). No estudo desenvolvido, conforme dados da Tabela 2, foi obtido valores de ºBrix equivalentes a 3,98 ± 0,04, mostrando baixo residual fermentativo. No estudo realizado por Silva (2022) realiza um comparativo com diferentes matrizes de vinagres, onde para o vinagre de cerveja foi obtido valor de ºBrix equivalentes a 5,00 ± 0,00, indicando assim concordância entre os dados deste presente estudo.

De acordo com Briggs *et al.* (2004), a cor da cerveja ou bebidas fermentadas a partir de malte, em grande parte, está relacionada à melanina e caramelo presentes na matéria-prima. Pela legislação brasileira, as cervejas são consideradas claras, quando a intensidade de cor está abaixo de 20 EBC (Brasil, 2009). De maneira análoga podemos evidenciar tal parâmetro no vinagre obtido, uma vez que o mesmo correspondeu a 3,30 ± 0,07 EBC, indicando uma coloração aparente de caramelo translúcido, visualmente evidenciado.

Segundo Oliveira (2006), partículas de tamanho coloidal (amido, compostos de cor, fibras de bagaço, etc.) podem turvar as bebidas, como aconteceu no presente estudo. Porém uma turbidez de 40,46 ± 2,00 NTU obtidas no trabalho, não descaracterizou o produto.

O uso de subprodutos da indústria cervejeira para a produção de vinagre é uma abordagem inovadora e sustentável, conforme descrito por Hutchinson *et al.* (2019), que estudaram o uso de resíduos alimentares em processos de fermentação para criar produtos com valor agregado. A reutilização de resíduos industriais não apenas reduz o impacto ambiental, mas também contribui para uma economia circular, conforme discutido por Martins (2021), reforçando a viabilidade dessa prática em indústrias de bebidas.

Sugestões para realizar otimização do processo fermentativo, como as sugeridas por Costa (2014), indicam que o controle da temperatura, aeração e tempo de fermentação são fatores-chave para garantir a conversão completa do álcool e evitar uma acidificação excessiva. Para melhorar os resultados de acidez titulável no vinagre de cevada, é recomendável explorar ajustes nesses parâmetros.

4. CONCLUSÃO

A produção de vinagre a partir de subprodutos da indústria cervejeira, como o álcool gerado na fermentação do malte de cevada, mostrou-se uma alternativa viável e sustentável. O estudo cumpriu os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira, realizou as fermentações seletivas e acéticas de forma controlada, e os resultados indicaram que o vinagre produzido atendeu aos requisitos exigidos. As análises de caracterização confirmaram que o fermentado acético de malte apresentou propriedades adequadas, como acidez, pH, teor alcoólico e outras características essenciais. Esse processo não só aproveita resíduos industriais, como também contribui para a redução do desperdício e para a sustentabilidade da produção de alimentos.

Portanto, o uso de subprodutos da indústria cervejeira na produção de vinagre oferece uma solução eficiente e benéfica tanto para a indústria quanto para o meio ambiente, promovendo uma economia circular e o reaproveitamento. Além de minimizar o impacto ambiental, essa prática permite que os resíduos sejam transformados em novos produtos com valor agregado, tornando a produção mais econômica e sustentável. Assim, o estudo destaca o potencial da indústria cervejeira para adotar práticas mais ecológicas, ao mesmo tempo em que maximiza a eficiência dos processos produtivos, favorecendo tanto a inovação quanto o reaproveitamento de resíduos industriais.

REFERÊNCIAS

[1] AQUARONE, Eugênio et al. Biotecnologia Industrial Vol. 4 . [S. l.: sn], 2001.

[2] BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Anuário da Cerveja 2024: ano de referência 2023 . Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/SDA, 2024.

[3] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil , Brasília, DF, 5 jun. 2009. Seção 1. Disponível em: . Acesso em: 08 atrás. 2024.

[4] BRIGGS, DE; BOULTON, CA; STEVENS, R. Química da fervura do mosto. Em: BRIGGS, DE; BOULTON, CA; STEVENS, R. Fabricação de cerveja: ciência e prática . Cambridge: Woodhead Publishing, 2004. cap. 9, p. 306-325.

[5] CONVENÇÃO EUROPEIA DE CERVEJARIA (EBC). Home - Convenção Europeia de Cervejaria. 2005. Disponível em: https ://europeanbreweryconvention .eu .UE/ .

[6] COSTA, Vera Clemente. Análise do processo de fabricação de vinagres . [S. l.], 2014. Disponível em: https ://www .repository .utl .pt /handle /10400.5 /8574 .

[7] FEISTAUER, Lucas Brambilla Hilbig. Propriedades antioxidantes da cerveja artesanal . [S. l.], 2016. Disponível em: http ://www .lume .ufrgs .br /handle /10183 /147871 .

[8] GABRIEL, Pedro; SOUZA, Santos; ANDRADE, Wesley Vertuan de. Caracterização do amargor da cerveja em microcervejarias da cidade de Ponta Grossa - PR . Trabalho de conclusão de curso. [S. l.], 2017.

[9] HUTCHINSON, R., et al. Utilização de subprodutos em fermentação para produção de vinagres. Jornal de Processamento de Alimentos , 2019.

[10] HUTKINS, RW Microbiologia e Tecnologia de Alimentos Fermentados . 2ª edição. Wiley-Blackwell, Nova Iorque, 2018. Disponível em: https://www.scirp.org / referência / referênciaspapers ? referenceid =2833951 . Acesso em: 01 fev. 2024.

[11] INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz . v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985.

[12] IVANOV, Rafael Coelli. Fermentação Acética: Abordando Transformações Químicas e Bioquímicas . [S. l.], 2011. pág. 44.

[13] JAMSCHIDI, N. et al. Time-restricted feeding improves glucose tolerance in men at risk for type 2 diabetes: a randomized crossover trial. Obesity (Silver Spring) , v . 27, n. 5, p. 864-871, 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31002478/ . Acesso em : 01 fev. 2024 .

[14] LIMA, Luciana Leite de Andrade; FILHO, Artur Bibiano de Melo. Tecnologia de bebidas . [S. l.:sn], 2011. E-book. Disponível em: http ://pronatec .ifpr .edu .br /wpcontent /uploads /2013 /06 /Tecnologia_de_Bebidas .pdf .

[15] MARTINS, Juliete. Produção e Caracterização Físico-Química e Microbiológica do Vinagre de Jambolão (Syzygium cumini) . [S. l.], 2021.

[16] MENEGUZZO, J; RIZZON, Luiz Antenor. Sistema de produção de vinagre . [S. l.], 2009.

[17] MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento. ANAV - Associação Nacional das Indústrias de Vinagre. [S. l.], 2012. Disponível em: http ://www .anav .com .br /clipping_interna .php ?id =31 . Acesso em: 19 nov. 2019.

[18] OLIVEIRA, DT Impactos dos Itens da Especificação de Qualidade do Açúcar na Indústria Alimentícia . Piracicaba: COPERSUCAR, 2006. 1 CD-ROM.

[19] OZTURK, I.; CALISKAN, O.; TORNUK, F.; OZCAN, N.; YALCIN, H.; SAGDIC, O. Características antioxidantes, antimicrobianas, minerais, voláteis, físico-químicas e microbiológicas de vinagres turcos caseiros tradicionais. LWT , v. 63, n. 1, p. 144-151, 2015. Disponível em: https ://doi .org /10.1016 /j .lwt .2015.03.003 .

[20] PEDROSA, J. et al. Fermentação Industrial: Controle e Otimização de Processos . São Paulo: Livraria e Editora Varela, 2009.

[21] SENGUN, IY; KILIC, G.; OZTURK, B. Screening physicochemical, microbiological and bioactive properties of fruit vinegars produced from various raw materials. Ciência dos Alimentos e Biotecnologia , v. 29, n . 3 , p . 401-408, 2020. Disponível em : https://doi.org/10.1007/s10068-019-00678-6 .

[22] SILVA, VBVH Propriedades microbiológicas e físico-químicas de produtos acetificados obtidos de frutos fermentados . ISE/UAlg e UAlg, 2022.

[23] SPINOSA, WA Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre . 2002. 244f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

Capítulo 7

Fatores que afetam a fermentação alcoólica: revisão e análise

Mayra Schmidt Rechsteiner

Resumo: A cerveja é uma das bebidas mais consumidas no mundo, apreciada por diferentes tipos de consumidores devido ao seu sabor e versatilidade. Produzida a partir de quatro ingredientes essenciais – água, malte, lúpulo e levedura –, a cerveja passa por um processo fermentativo que, além de gerar etanol e gás carbônico, resulta em produtos secundários responsáveis por suas características sensoriais. Este estudo revisa os principais fatores que impactam diretamente a fermentação alcoólica, como a escolha das matérias-primas, o tipo de levedura, a temperatura e a oxigenação, e apresenta uma análise prática realizada em uma cervejaria, onde foram observados os efeitos do controle dessas variáveis. A revisão e análise demonstram que o gerenciamento eficiente desses parâmetros é essencial para obter uma cerveja equilibrada, minimizando compostos indesejáveis (*off-flavours*) e potencializando os compostos que definem o aroma e o sabor, garantindo a qualidade sensorial do produto final.

Palavras-chave: Cerveja, fermentação alcoólica, controle de processo.

1.INTRODUÇÃO

A cerveja, por definição legal, é uma bebida obtida pela fermentação alcoólica demosto, oriundo de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adiçãode lúpulo.

Derivada da palavra em latim *cervesia* e do gaulês *cerevisia*, em referência à Ceres, deusa romana da terra e dos cereais, a cerveja é uma das bebidas mais antigasconhecida pelos homens, possivelmente originada na região da Mesopotâmia. Há indícios de que a cerveja já era produzida nos anos 6000 a.C. Por séculos, a cerveja,e não a água, foi o líquido vital, pois percebeu-se que a cerveja era livre de microrganismos perigosos, em decorrência de seu processo de fervura e fermentação[1].

Sua história no Brasil tem início no século XVII, com a ocupação dos territórios nordestinos pelos holandeses, sob administração de Maurício de Nassau. A primeira cervejaria nacional e uma das primeiras das Américas foi instalada em Recife [2]. Já a sua produção em larga escala ocorre após o ano de 1808, com a vinda da família real portuguesa na época do Brasil Colônia [3]. A bebida é atualmente considerada paixão nacional, tornando o Brasil o 4º país de maior consumo *per capita* (L/hab) dospaíses latino e centro-americanos [1]. Em questões produtivas, segundo o Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja, no ano de 2016 o Brasil ocupava a 3ª posição, comuma produção de 13,3 bilhões de litros, atrás, apenas, da China e dos Estados Unidos,com 46 bilhões e 22,1 bilhões de litros, respectivamente. Dessa forma, o setor cervejeiro no Brasil movimenta R$ 77 bilhões em faturamento, o que equivale a 2% do PIB nacional, gera um impacto positivo em outros setores econômicos, como o agronegócio, transporte, energia, alumínio e vidros, e, direta ou indiretamente, garanteemprego a milhões de pessoas [4].

Devido à grande relevância do mercado cervejeiro para o país, a busca da cervejaperfeita e a fabricação de cervejas de boa qualidade, que se sobressaiam sobre as concorrentes, são imprescindíveis para as indústrias e seu *Market Share*[1]. Para tal, deve-se levar em consideração vários aspectos do processo fermentativo, como a escolha da levedura cervejeira, sua inoculação, a cinética fermentativa, contaminação, temperatura, entre outros. Nesse contexto, o metabolismo de cada linhagem determinará o sabor e aroma característicos ao produto. Assim, faz-se necessário revisar os fatores genéticos e ambientais que afetam o comportamento da levedura utilizada, de modo a obter um produto com as características organolépticas desejadas.

Este trabalho visa, portanto, realizar uma revisão bibliográfica sobre os fatores que influenciam o comportamento da levedura cervejeira, comprometendo seu desempenho e o perfil sensorial do produto, além de demonstrar a interação entre esses fatores em uma fermentação real.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CERVEJA: DEFINIÇÃO LEGAL

No Brasil, tanto o registro, como a classificação, padronização, controle, inspeção e fiscalização da cerveja são de encargo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [5].

O Decreto 9.902, de 8 de julho de 2019, altera o Decreto 6.871, de 4 de junho de2009, que

[1] Porcentagem que corresponde à relevância da sua empresa diante dos competidores da indústria em que ela atua.

regulamenta a Lei 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

Como consta na legislação brasileira, no Artigo 36 do referido Decreto, "Cerveja éa bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro" [6].

2.2. MATÉRIAS – PRIMAS

Promulgada em 1516, na Bavária, a Lei da Pureza (Reinheitsgebot), essência datradicional escola cervejeira alemã, estabelece três ingredientes básicos para aprodução de cerveja: água, malte de cevada e lúpulo [7].

Até hoje, esses são os ingredientes essenciais para a produção cervejeira. No entanto, outros cereais não maltados, como arroz, milho, trigo, aveia, centeio ou sorgo, podem ser utilizados em substituição parcial do malte de cevada. A estes constituintes nos referimos como adjuntos [8].

A levedura cervejeira não se classifica como matéria-prima, visto que é empregada como fator de conversão bioquímica dos demais ingredientes utilizados por meio da fermentação alcoólica [5].

2.2.1. ÁGUA

Dentre as matérias-primas cervejeiras, a água tem predominância devido a quantidade utilizada no processo, não apenas para produção direta da cerveja, comotambém para limpeza e outras etapas de produção [9].

A potabilidade e a qualidade da água cervejeira são imprescindíveis, definindo atéo local para indústrias serem instaladas, facilitando a obtenção de uma água com composição uniforme e de boa qualidade [10].

Por compor mais de 90% do produto, as características dos diferentes estilos de cerveja são influenciadas pela composição da água utilizada, como por exemplo a cerveja Pilsen, que demanda água mole[2], enquanto cervejas de alta fermentação, no geral, têm preferência por água dura[3].

Dessa forma, a água é adequada pelas cervejarias para se obter as características organolépticas desejadas. Contudo, primeiramente, a água deve ser tratada de modoa atender as exigências de potabilidade estabelecidas por legislação [11].

2.2.2. MALTE

Tecnicamente, o malte se trata do produto do processo de malteação, que engloba três etapas: maceração, germinação e secagem. A este processo podem ser submetidos qualquer cereal: arroz, milho, trigo, aveia, sorgo, triticale, entre outros, sendo cevada o

[2] A dureza da água é definida em termos da concentração dos cátions cálcio e magnésio. Emconcentrações menores que 75mg/L, a água é classificada como mole.
[3] Em concentrações acima de 150mg/L, a água é classificada como dura.

principal deles.

Por meio desse processo, obtém-se cadeias menores dos carboidratos presentesno grão, tornando-o menos duro e mais solúvel [1], facilitando a liberação de enzimascontidas no interior do mesmo, que são essenciais para o processo cervejeiro, aumentando seu poder diastático[4] [5].

2.2.3. LÚPULO

O lúpulo, planta da espécie *Humulus lupulus*, tem preferência por regiões de climas temperados e é de difícil cultivo [1]. Para a produção cervejeira, utiliza-se a florseca da planta fêmea do lúpulo, pois essas possuem glândulas próximas às bases de suas pétalas, as glândulas de lupulina, que contêm, entre outros compostos, resinas e óleos essenciais que conferem amargor e aroma à cerveja.

Além dessas propriedades, a composição química do lúpulo também confere à cerveja estabilidade à oxidação, devido a presença de polifenóis e estabilização microbiológica, por suas propriedades bacteriostáticas, sendo o lúpulo, então, um conservante natural do produto e fator importante para a história da bebida [12].

2.2.4. ADJUNTOS

Adjuntos são as matérias-primas diferentes do malte utilizadas como fonte adicional de extrato para o mosto, portanto, os adjuntos complementam o malte de cevada [1].

Há vantagens na utilização de adjuntos, como redução de custos, visto que estes apresentam menor custo em relação ao malte, e a produção de cervejas mais claras.O sucesso também se dá devido a produção de cervejas mais suaves ao paladar, commenos aromas maltados, proporcionando maior *drinkability*[5] ao estilo de cerveja desejado [12].

2.3. LEVEDURA CERVEJEIRA

A escolha da levedura é fundamental para o perfil final do produto, visto que ela éa principal responsável pelas características de aroma e sabor de qualquer tipo de cerveja [1].

Classificadas como fungos, as leveduras são amplamente empregadas em processos fermentativos devido a vasta gama de produtos que podem fornecer a partir de sua atividade metabólica (exemplos: enzimas, etanol, vitaminas, proteínas, lipídios, entre outros), além de seu rápido crescimento e eficiência de conversão. Na indústriacervejeira são comumente empregadas as leveduras do gênero *Saccharomyces*.

Nas cervejarias, há também uma classificação das leveduras quanto ao seu comportamento durante o processo fermentativo. Dessa forma, denominam-se cervejas de “alta fermentação” (Ale) aquelas que, durante a fermentação, as levedurassobem para a superfície do mosto; já as de “baixa fermentação” (Lager), aquelas queno final do processo fermentativo, decantam no fundo do fermentador [5].

Na produção de cerveja, a levedura produz principalmente o etanol e o gás carbônico.

[4] Disponibilidade no grão de enzimas diastáticas, ou seja, que convertem amido em açúcaresfermentescíveis.
[5] Conceito subjetivo que avalia o quanto a cerveja é agradável de se beber; o grau de satisfação como líquido.

Além disso, a levedura produz compostos de aroma e sabor, responsáveis, majoritariamente, pelo perfil sensorial da cerveja acabada. A formação de tais compostos é determinada pelo balanço metabólico global do cultivo da levedura e diversos fatores podem prejudicar tal balanço, prejudicando, consequentemente, o sabor do produto [1].

2.3.1. MULTIPLICAÇÃO CELULAR

As leveduras cervejeiras se reproduzem assexuadamente por brotamento. No momento em que é dosada em um tanque fermentador, a levedura se encontra em um estado de repouso denominado fase lag (fase latente), em que uma série de eventos ocorre para a reativação do metabolismo celular.

Nas primeiras horas de fermentação, as células reagem a presença de nutrientese oxigênio no mosto, elevando as taxas de multiplicação celular em uma fase de aceleração [9]. O oxigênio disponível no mosto é utilizado para a síntese de esteróis e ácidos graxos, fundamentais para a multiplicação celular [11].

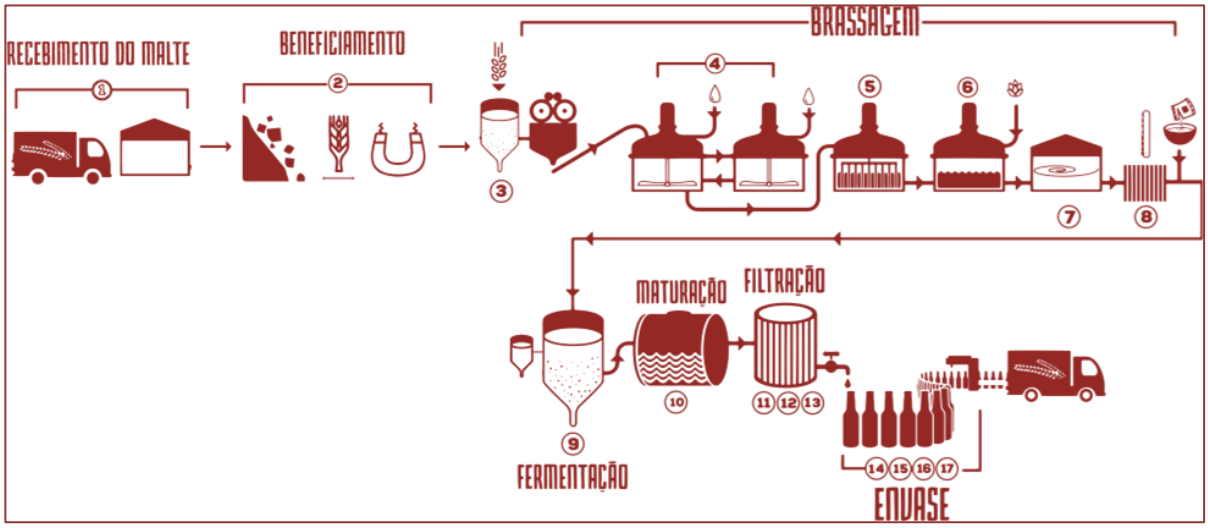
Em sequência, a taxa de multiplicação celular atinge seu máximo na fase log (fase logarítimica). O consumo dos açúcares e consequente formação de etanol, CO_2 e outros compostos metabólicos, responsáveis por compor o perfil sensorial da cerveja, são intensos [13].

Devido à escassez de nutrientes, a levedura entra em uma fase de desaceleraçãoe menor consumo de energia, seguida por uma fase estacionária, em que a razão entre células mortas e novas células é constante, ou seja, atinge-se o equilíbrio. Nesteperíodo, a busca por fontes alternativas para manter sua nutrição, as leveduras consomem metabólitos indesejados, como o diacetil. Por fim, a ausência de fontes decarbono e aumento de fatores inibitórios, as taxas de autólise prevalecem, estabelecendo a fase de declínio do crescimento celular [9].

2.4. PROCESSO CERVEJEIRO

O processo de produção de cerveja consiste basicamente em três etapas: a brasagem ou mosturação, envolvendo as operações de produção do mosto, o processo fermentativo, englobando a fermentação em si e a maturação, e, por fim, a filtração e envase da cerveja [5]. O fluxograma desse processo pode ser observadona Figura 1 [14].

Figura 1. Fluxograma do processo de produção de cerveja



(Fonte: AMBEV, 2018).

2.4.1. BENEFICIAMENTO DO MALTE

A produção de cerveja inicia-se com o beneficiamento do malte. Essa etapa consiste na remoção de impurezas da matéria prima, como pedras, outros tipos de grãos, pó, materiais metálicos, etc. [5]. Realizada essa limpeza, o malte é submetido à moagem, com o intuito de expor a parte interna do grão e liberar seu conteúdo amiláceo, promovendo melhor desempenho enzimático [12].

Para a moagem, são utilizados dois tipos de moinhos - de rolos ou de martelo – dependendo das particularidades dos mosturadores e do sistema de filtração do mosto [5].

2.4.2. MOSTURAÇÃO

Nessa etapa, ocorre a mistura das matérias-primas (malte e adjuntos) com água cervejeira nas chamadas tinas de mosturação [12]. O processo tem o intuito de viabilizar a hidrólise do amido em açúcares fermentescíveis (que serão convertidos em álcool e CO_2) e não fermentescíveis (que irão contribuir para o corpo da cerveja), formando o extrato do mosto. Para tal, a mostura (água + malte + adjunto) é submetidaa temperaturas e pH apropriados de modo a desencadear uma série de reações bioquímicas catalisadas por enzimas [8]. A Tabela 1 apresenta, resumidamente, as enzimas, suas formas de atuação e suas respectivas condições ótimas de temperatura e pH [15].

Tabela 1. Atuação enzimática e respectivas condições ótimas de pH e temperatura

Enzima	Atuação	pH	Tempertura (ºC)
Hemiceulase	Decomposição da hemicelulose paraglucanos de baixa e média massa molar	4,5 – 4,7	40 – 45
Exo-Peptidase	Decomposição das proteínas de altae média massa molar	5,2 – 8,2	40 – 50
Endo-Peptidase	Decomposição das proteínas paraprodutos intermediários de alta e média massa molar	5,0	50 – 60
β – amilase	Decomposição do amido para maltose pela desagregação dascombinações 1-4	5,4 – 5,6	60 – 65
α – amilase	Decomposição do amido para dextrinas inferiores pela desagregação das combinações 1-4	5,6 – 5,8	70 - 75

(Fonte: Tschope, 2001).

Dentre os processos tradicionais de mosturação, destacam-se a infusão, a decocção e o aquecimento direto. No método de infusão, o aquecimento do mosto é feito a partir da adição da água quente aos grãos, geralmente em uma tina de mostura com o fundo perfurado, funcionando, também, como tina de clarificação. O método dedecocção utiliza um outro cozinhador para aquecer parte do mosto que, após fervura,é devolvido à tina de mostura. Já em grandes cervejarias, há maior utilização do processo de aquecimento direto, de mostura com concentração constante por meio de tinas de aquecimento a vapor [11].

Durante o processo, o perfil das rampas de aquecimento e momentos de repouso,ou seja, o perfil das curvas de mosturação, passa por variações. A escolha pela melhor curva depende de inúmeros fatores que favoreçam uma atividade enzimática eficiente e garantam a conversão do amido em açúcares [16]. Ao final da mosturação, realiza-se o teste do iodo para confirmar a sacarificação do amido do malte. O teste baseia- se na reação do iodo com o amido, resultando em uma coloração roxo-azulada. Na ausência dessa coloração, houve a completa conversão [5].

2.4.3. FILTRAÇÃO

Após a mosturação, o mosto é separado da parte sólida insolúvel, o bagaço demalte. Dentre os equipamentos de filtração, destacam-se a tina filtro e o filtro prensa.

O bagaço, que contém casca do malte, resíduo de parede celular, proteína coagulada, entre outros, servirá como torta filtrante através da qual o mosto será separado. Primeiramente, o mosto passará pelo leito filtrante, sendo designado como mosto primário; em seguida, lava-se a torta retida com água, afim de recuperar o extrato restante ali, sendo chamado de mosto secundário.

Ao final, o bagaço é recuperado e vendido como alimento para ruminantes, sendo um coproduto do processo [5].

2.4.4. FERVURA

O mosto filtrado é então transferido para a tina de fervura. É uma etapa essencialno processo por garantir a esterilização do mosto, bem como o aprimoramento da cor,do aroma e do amargor da cerveja, devido à adição do lúpulo. Compostos que conferem odor e sabor indesejados, como de cevada, são volatilizados [5].

Na fervura também há a coagulação proteica e de taninos presentes no mosto, formando um resíduo denominado "trub". Este será decantado e retirado para evitar impactos negativos na aparência e sabor da cerveja [16].

2.4.5. RESFRIAMENTO E AERAÇÃO DO MOSTO

O mosto quente deve chegar ao fermentador com temperatura apropriada para a inoculação do fermento. Normalmente, seu resfriamento é feito em trocador de calor de placas [16].

O oxigênio é o maior inimigo da cerveja, oxidando-a e causando sua deterioração,exceto na etapa de aeração do mosto. Nesse momento, o oxigênio é fundamental para a propagação do fermento, por meio de metabolismo oxidativo, e também para sintetizar componentes das membranas intracelulares, como esteróis e ácidos graxos[5].

2.4.6. FERMENTAÇÃO E MATURAÇÃO

A fermentação ocorre em tanques cilíndricos fechados, chamados de fermentadores ou dornas, revestidos por uma camisa que possibilita a circulação de um fluido refrigerante, mantendo o sistema na temperatura desejada de acordo com a cerveja a ser produzida [17].

Durante essa fase, as leveduras irão metabolizar os açúcares fermentescíveis, convertendo-os em etanol e gás carbônico (CO_2), produtos primários. As leveduras também são responsáveis pela produção de outros compostos, como ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos, que conferem propriedades sensoriais à cerveja [16].

Concluída a fermentação, a cerveja é centrifugada, para que haja remoção do fermento presente, e resfriada. Então, é direcionada aos tanques maturadores, onde será maturada. Na maturação, compostos de mau odor são assimilados pelas leveduras remanescentes e há a produção de componentes aromáticos (principalmente ésteres), consolidando o perfil sensorial final do produto [12].

2.4.7. FILTRAÇÃO

A cerveja maturada é direcionada a etapa de filtração. Dependendo do estilo desejado, essa etapa não é necessária. Ela consiste em processos físicos de remoçãode partículas em suspensão no líquido e componentes prejudiciais à cor, garantindo obrilho e transparência da cerveja. Após a filtração, a cerveja é carbonatada, ou seja, adiciona-se o próprio CO_2 obtido durante o processo fermentativo [17].

2.4.8. ENVASE E PASTEURIZAÇÃO

Finalizando o processo produtivo, a cerveja é envasada em garrafas ou latas. Estas são

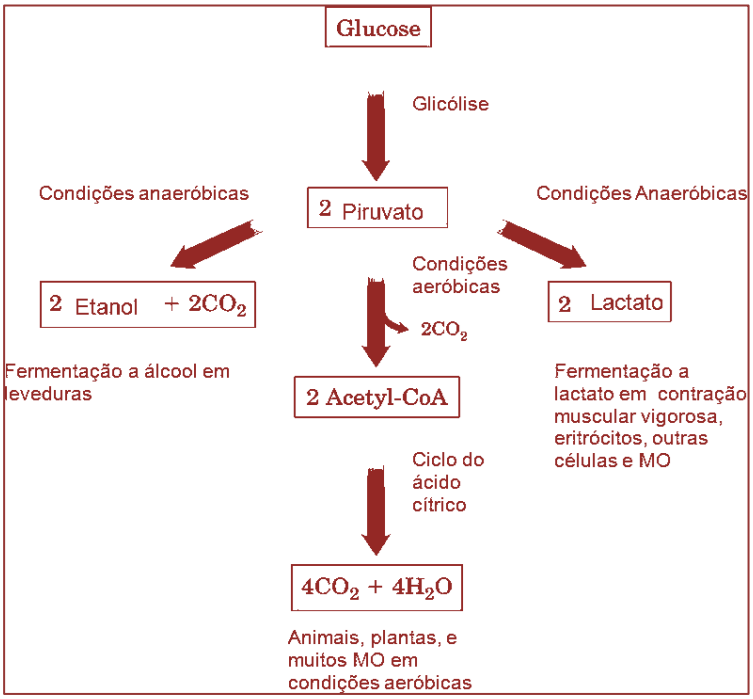
submetidas à pasteurização. Nesse processo, o líquido envasado é expostopor um período de tempo a altas temperaturas, de modo a inibir qualquer atividade microbiológica que possa diminuir o tempo de prateleira do produto [16].

2.5. FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A existência de mecanismos celulares de obtenção de energia é essencial para aprogressão da vida. Uma dessas estratégias é denominada glicólise (do grego *glykys*, "doce" ou "açúcar", e *lysis*, "quebra").

A glicólise foi a primeira via metabólica a ser elucidada e esse processo consiste, basicamente, em uma série de reações, catalisadas por enzimas, que convertem a glicose em duas moléculas de piruvato, liberando energia na forma de ATP, como esquematizado na Figura 2 [18].

Figura 2. Esquema das três possíveis rotas do catabolismo do piruvato



(Fonte: Nelson, Cox, 2014).

Os organismos vivos de modo geral têm seu metabolismo fracionado em catabolismo e anabolismo. O processo anabólico refere-se a biossíntese das macromoléculas celulares utilizando a energia armazenada na molécula de ATP. Já no catabolismo, há a degradação das moléculas, liberando energia na forma de ATP [5].

A levedura cervejeira é capaz de catabolizar açúcar tanto na presença, quanto naausência de oxigênio. Em contato com o oxigênio, as moléculas de açúcar são oxidadas, resultando em gás carbônico, água e energia, como mostra a Equação (1).

Em condições de anaerobiose, uma molécula simples de açúcar, como a glicose, é fermentada, produzindo etanol, gás carbônico e energia, como representa a Equação(2).

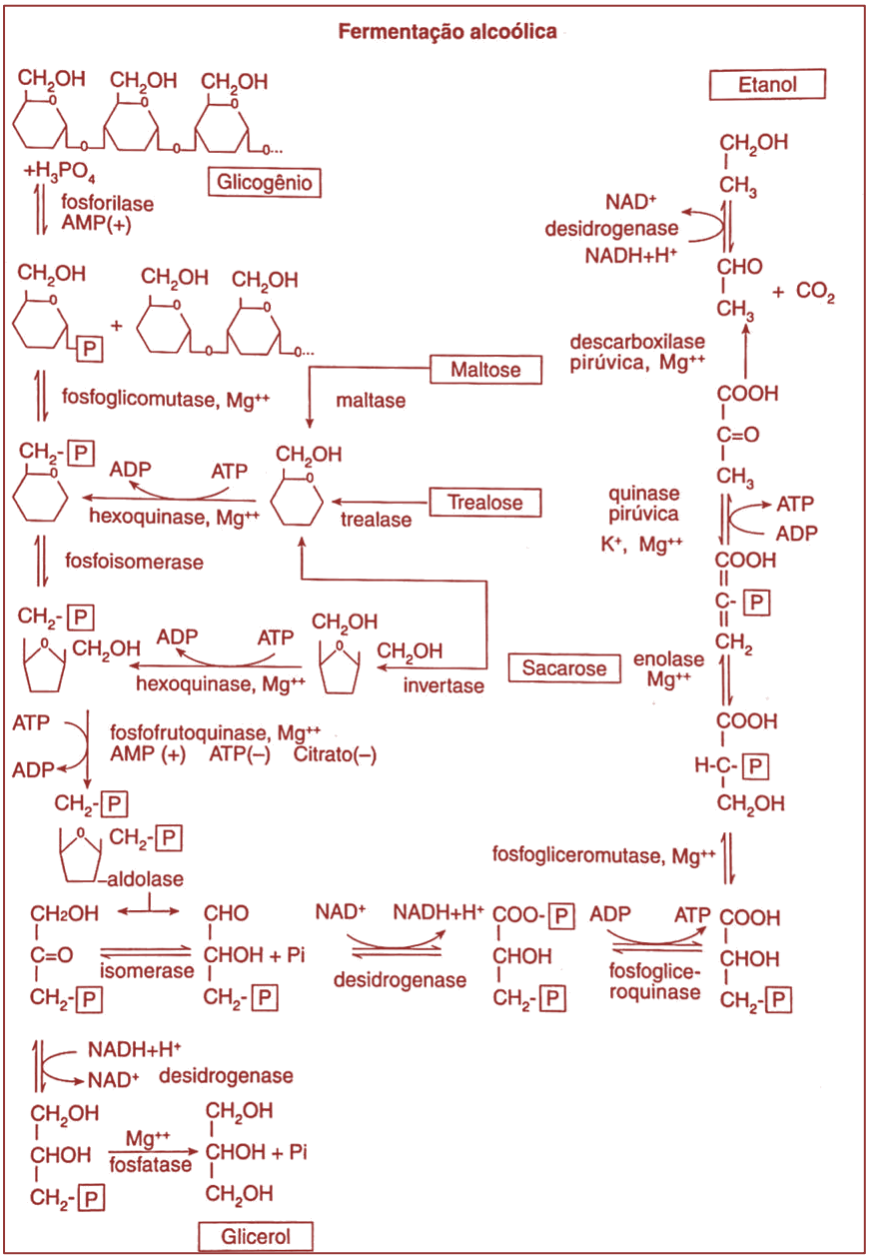
Na produção cervejeira, ambas as rotas são relevantes [5].

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 6CO_2 + 6H_20 + 38\ ATP + calor \qquad (1)$$

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 2\ ATP\ + calor \qquad (2)$$

Dessa forma, designa-se fermentação a conversão anaeróbia de componentes orgânicos para obtenção de energia. Já a fermentação alcoólica, esquematizada pela Figura 3, é considerada a terceira rota principal do catabolismo do piruvato, resultandona obtenção de etanol e CO2 [18].

Figura 3. Série de reações enzimáticas ordenadas no processo de fermentação alcoólica



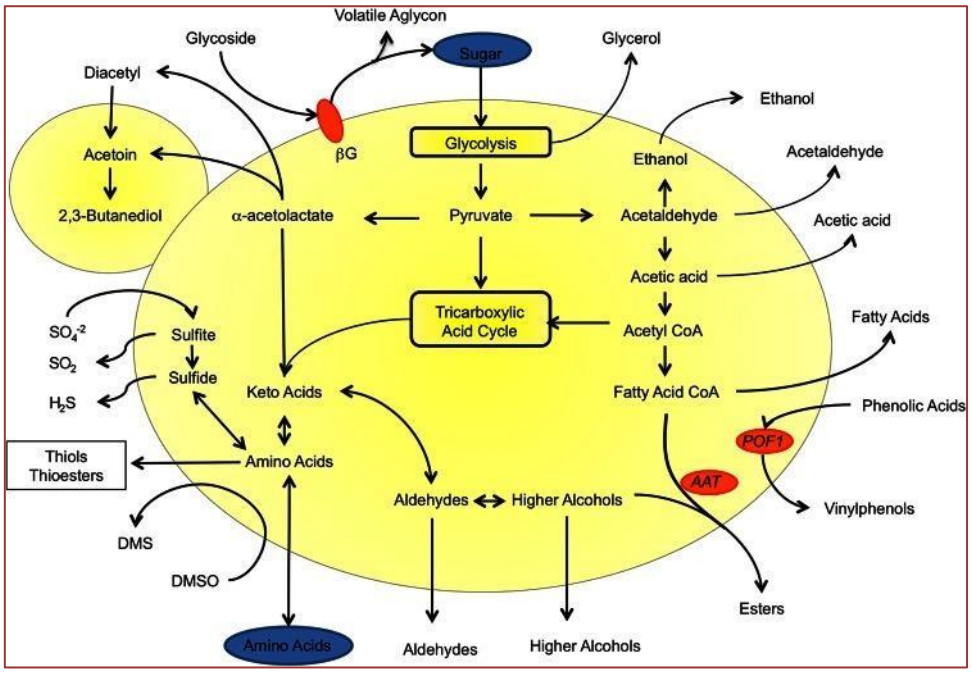
(Fonte: Lima et al., 2014).

Em síntese, essa transformação envolve 12 reações sucessivas, cada uma catalisada por enzima específica. Essas enzimas são denominadas "glicolíticas" e sãoafetadas por diversos fatores, como pH e temperatura, de modo a incitar ou limitar suaação, impactando na eficiência do processo fermentativo [19].

2.6. PRODUTOS SECUNDÁRIOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Na sequência de reações envolvidas no processo fermentativo que resultam na formação de álcool e CO2, outras rotas metabólicas alternativas surgem de modo a possibilitar a produção de compostos essenciais à estruturação da biomassa, além decompostos direta ou indiretamente vinculados a adaptação e sobrevivência, que conferem sabores e aromas à cerveja [19]. Na Figura 4, está ilustrado um esquema simplificado dessas vias [20].

Figura 4. Visão geral das principais vias metabólicas da *Saccharomyces* que afetam a avaliação sensorial da cerveja



(Fonte: Bokulich, Bamforth, 2013).

2.6.1. ÁLCOOIS SUPERIORES

Os álcoois superiores são compostos presentes no aroma de cervejas maturadas[9]. Sua contribuição se deve a intensificação do aroma e do sabor alcoólico, refletindono efeito de aquecimento do paladar. Estes também têm participação direta na formação de ésteres, como precursores [11].

Podem ser metabolizados tanto pela via anabólica, quanto catabólica, ambas ligadas a assimilação de nitrogênio e ao consumo e síntese de aminoácidos. Sua formação ocorre através da desaminação dos aminoácidos presentes no mosto [21].

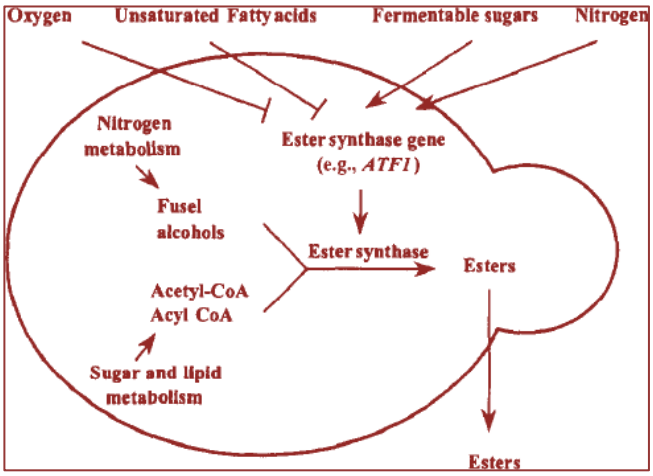
Dessa forma, as condições de composição do mosto e parâmetros de fermentação

favorecendo a multiplicação celular resultam em uma alta formação de álcoois superiores [11].

2.6.2. ÉSTERES

Os ésteres são os compostos de aroma mais importantes na cerveja. São compostos voláteis resultantes da esterificação de ácidos graxos com álcoois superiores, como exemplificado na Figura 5, e são os principais responsáveis pelas notas florais e frutadas presentes na cerveja, porém, em excesso, podem se tornar desagradáveis [21].

Figura 5. Bioquímica envolvida na formação de ésteres pela levedura



(Fonte: Verstrepen et al., 2003).

Os ésteres de maior relevância do ponto de vista organoléptico estão descritos natabela a seguir, juntamente com seus aromas correspondentes [22].

Tabela 2. Principais ésteres presentes na cerveja e seus respectivos aromas e concentrações

Éster	Faixa de ConcentraçãoTípica (ppm)	Concentraçãode Percepção(ppm)	Descrição do Aroma
Acetato de etila	8 – 32	21 – 30	Frutado, solvente
Acetato de isoamila	0,8 – 6,6	1,4	Banana, pêra
Hexanoato de etila	0,07 – 0,5	0,2	Maçã, anis
Butirato de etila	0,05 – 0,25	0,4	Frutas tropicais, manga
Acetato de fenil-etila	0,1 – 0,75	3,8	Rosas, mel

(Fonte: Verstrepen et al., 2003).

2.6.3. ÁCIDOS ORGÂNICOS

A concentração dos ácidos orgânicos na cerveja é modulada pela levedura durante o processo fermentativo. Similar ao metabolismo dos álcoois superiores, os ácidos

orgânicos são formados a partir de compostos nitrogenados, principalmente aminoácidos, presentes no mosto [9].

Estão presentes na cerveja mais de cem ácidos orgânicos, sendo os principais o ácido acético, fórmico, pirúvico, succínico, málico e cítrico. Estes são importantes pois estão envolvidos na diminuição do pH da cerveja, colaborando para estabilidade microbiológica, amargor palatável e cor mais clara [21]. Conferem acidez, e, em alguns casos, como o succínico, o gosto amargo à cerveja. Outros, por sua vez, podem trazer sabores indesejados para a cerveja, como o de sabão, ocasionado por ácidos graxos de cadeia curta [11].

2.6.4. ALDEÍDOS

Os aldeídos se originam por meio do metabolismo da levedura, pela degradação dos aminoácidos durante o cozimento do mosto ou pela descarboxilação dos ácidos orgânicos. O mais importante para o processo cervejeiro é o acetaldeído [21].

Durante os primeiros dias de fermentação, na fase mais ativa de multiplicação celular, o acetaldeído atinge concentrações altas, mas é consumido durante a fermentação, sendo reduzido a álcool [11].

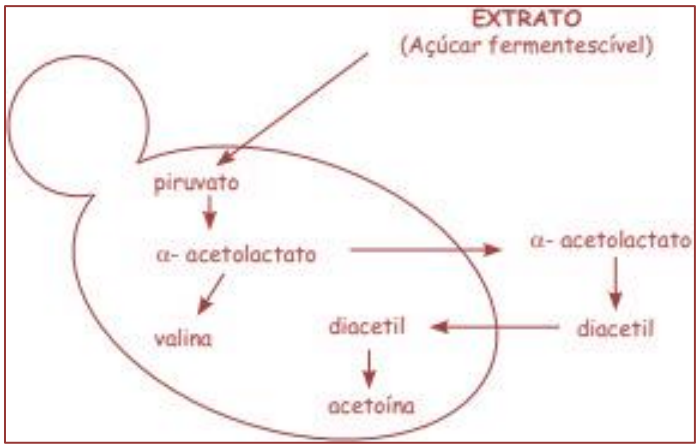
O aroma característico dos aldeídos é o de maçã verde, contudo, em quantidades elevadas, podem provocar *off-flavours* como vegetal verde, verniz velho, papelão. Elevadas quantidades de aldeídos estão associadas ao mau gerenciamento e estado da levedura, com consequente desempenho fermentativo fraco [21,11].

2.6.5. DIACETIL

Diacetil é o aroma mais evidente em cervejas imaturas, o conhecido odor de manteiga rançosa. Similar à 2,3 pentanodiona, são chamados de dicetonas vicinais [9]. Sua formação e absorção, esquematizadas na Figura 6, acontecem em três etapas distintas [11,23]:

1. Dentro da célula da levedura ocorre a biossíntese dos aminoácidos valina e isoleucina, precursores do diacetil e da 2,3 pentanodiona, respectivamente. Nessa via, forma-se o α-acetolactato em excesso, que é parcialmente excretado para a cerveja;
2. O α-acetolactato sofre uma descarboxilação oxidativa fora da célula e forma o diacetil. Essa é uma reação espontânea, portanto, é uma etapa mais lenta;
3. Da metade para o final da fermentação, a levedura utiliza o diacetil extracelular, reduzindo-o à acetoína e a 2,3 butanodiol. Estes compostos são sensorialmente perceptíveis apenas em concentrações muito elevadas. Em condições favoráveis, a terceira etapa é bastante rápida.

Figura 6. Esquema das três fases distintas da formação e absorção do diacetil



(Fonte: Carvalho, Rossi, Silva, 2007).

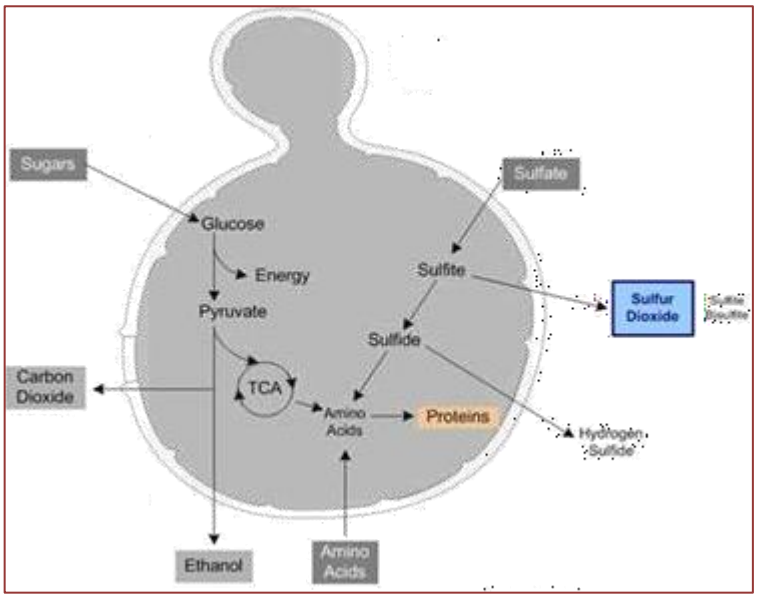
2.6.6. COMPOSTOS DE ENXOFRE

O metabolismo da levedura também leva a formação de compostos de enxofre, como o H_2S, SO_2 e dimetilsulfeto (DMS). Estes compostos voláteis conferem sabores e aromas acentuados, que podem ser positivos em baixas concentrações, ou *off- flavours* em altas concentrações [9]. São derivados de compostos sulfurosos orgânicos do mosto, como metionina, ou de proteínas que contenham parcela sulfurada.

Caso a cerveja possua aroma similar a ovo podre, há elevada quantidade de H_2S no produto. O H_2S é acumulado durante a fase inicial da fermentação, porém, é arrastado pelo CO_2 produzido, com níveis residuais baixos no produto acabado. Já o DMS resulta da conversão do dimetilsulfóxido (DMSO) presente no mosto por ação enzimática. Este composto confere à cerveja sabor e aroma de vegetais cozidos [11].

Outro composto de enxofre com extrema importância é o SO_2, considerado um antioxidante natural da cerveja. Sua síntese pode ser verificada nas primeiras 100 horas de fermentação, em que a multiplicação celular ainda está em vigor. A levedura necessita produzir aminoácidos que componham sua parede celular, uma vez que a quantidade disponível no mosto não é suficiente. O SO_2, portanto, é um intermediário dessa rota metabólica, como mostra a Figura 7, sendo gerado juntamente com aminoácidos sulfurados, como metionina e cisteína [24,25].

Figura 7. Bioquímica da formação de SO_2 na levedura



(Fonte: AMBEV, 2020).

2.7. FATORES QUE AFETAM A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O processo da fermentação alcoólica pode sofrer influência de diversos fatores, levando a uma redução do rendimento da fermentação. Tais fatores podem ser categorizados, majoritariamente, em quatro grupos: fatores genéticos (como a escolhada cepa da levedura a ser utilizada), fatores físicos (como a temperatura), fatores químicos (como pH, oxigenação e nutrientes) e os fatores microbiológicos (como concentração, viabilidade celular e contaminação bacteriana) [3,19].

2.7.1. MATÉRIA – PRIMA

As matérias-primas utilizadas no processo cervejeiro e a qualidade das mesmas possuem grande impacto no perfil do produto e, se mal conservadas, podem gerar *off-flavors*.

Dentre as matérias-primas, o malte é de grande importância, visto que é a fonte de açúcares para a fermentação alcoólica [9]. Além disso, o conteúdo proteico e muitas propriedades da cerveja como cor, formação de espuma e alguns aromas, estão diretamente ligados ao malte utilizado [26].

A quantidade de aminoácidos livres (FAN) presentes no malte é assimilada durante o processo fermentativo sob condições apropriadas e a formação de diversosvoláteis está relacionada com essa via metabólica [13].

Quanto maior o teor de aminoácidos no mosto, maior a formação de álcoois superiores. Essa relação, posteriormente, altera o balanço de ésteres na cerveja. O FAN também exerce papel importante na síntese de SO2, em que concentrações elevadas inibem sua síntese a partir do sulfato. Por outro lado, concentrações muito baixas de FAN resultam em uma maior formação do precursor do diacetil, o α- acetolactato, pois nesse caso a quantidade de valina absorvida pela levedura não é suficiente, sendo necessária a síntese do aminoácido [11].

2.7.2. PERFIL DE AÇÚCARES

A levedura cervejeira é capaz de assimilar uma ampla variedade de açúcares, com pequenas diferenças entre as cepas. As leveduras do tipo Ale fermentam glicose,frutose, maltose, galactose, rafinose, maltotriose e trealose. As do tipo Lager fermentam, adicionalmente, o dissacarídeo melibiose [21].

Durante o processo fermentativo, primeiramente consome-se a sacarose. Sua hidrólise gera um aumento na concentração de frutose. A frutose e a glicose são utilizadas quase simultaneamente e, em 24 horas de fermentação, já não são mais encontradas no mosto. A utilização da maltose, açúcar presente em maior quantidadeno mosto, acontece depois da assimilação completa da glicose e, após redução significativa da sua concentração, a maltotriose passa a ser assimilada. As dextrinas, de maior peso molecular, são os denominados açúcares não fermentescíveis, que nãosão metabolizados pela levedura e contribuem para o corpo da cerveja [11].

A presença desses açúcares no mosto depende das condições de moagem, de mosturação e de cozimento dos adjuntos. O grau de fermentação pode ser calculadopor meio da relação entre carboidratos fermentescíveis e o total de carboidratos presente.

A alteração desse perfil de açúcares no mosto, como, por exemplo, a presença elevada de monossacarídeos, pode ser prejudicial à atenuação do extrato e favorávela uma produção excessiva de acetaldeído e SO_2 [11].

2.7.3. AGENTES DE FERMENTAÇÃO

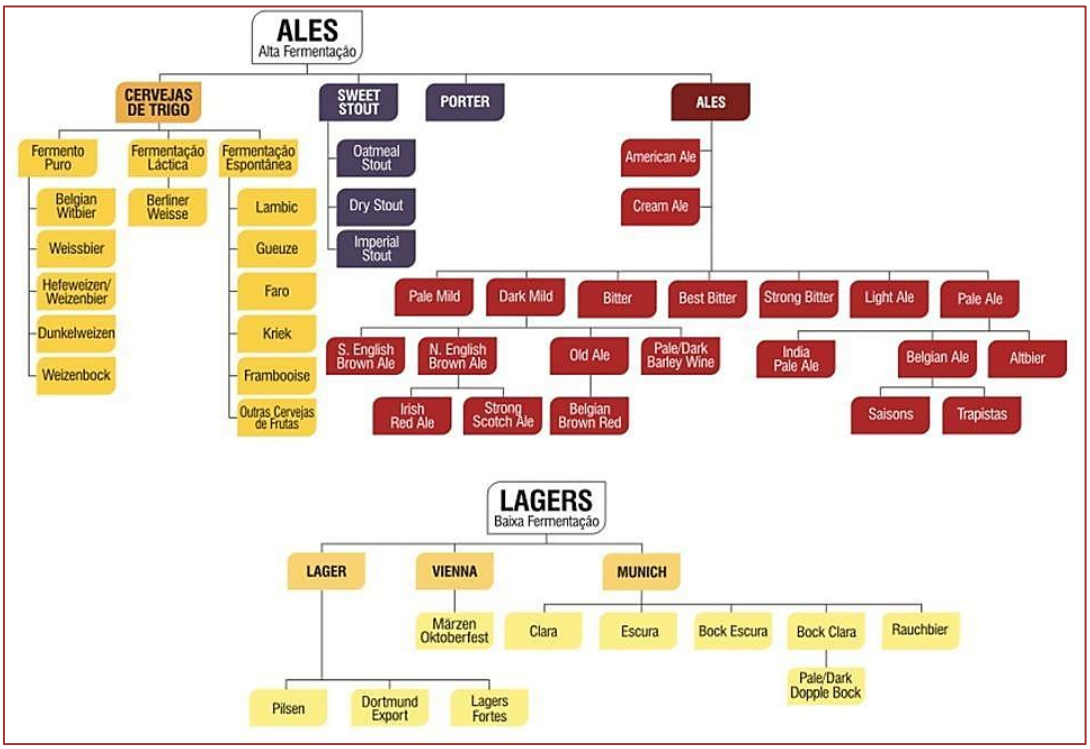
A escolha do agente de fermentação ideal é fundamental para o perfil fermentativo almejado. Dentre os microrganismos, a levedura destaca-se na obtenção do álcool por fermentação [19].

As leveduras cervejeiras são divididas em Ale (alta fermentação) e Lager (baixa fermentação), de acordo com sua temperatura ótima de fermentação. Enquanto as Ale têm preferências por temperaturas mais elevadas, entre 18 e 25ºC, as Lager produzem cervejas com boa atenuação[6] em temperaturas mais amenas, entre 8 e 15ºC [11]. As leveduras Ale pertencem à espécie *Saccharomyces cerevisiae* e as Lager, à espécie *Saccharomyces pastorianus* [27].

As leveduras do tipo Ale apresentam um maior número de variações de cepa do que as leveduras do tipo Lager, como pode ser observado na Figura 8. Isso se deve ao fato de que as leveduras Ale vêm sendo exploradas há mais de três mil anos, enquanto que as Lager começaram a ser usadas há menos de duzentos anos. As cervejarias, dessa forma, podem concentrar seu portfólio em uma ou duas cepas, como também podem necessitar de uma variedade maior para diversificação de seus produtos [11].

[6] Termo utilizado para quantificar quanto dos açúcares fermentescíveis foram convertidos em álcool.

Figura 8. Estilos de cerveja produzidos por cepas de alta e baixa fermentação



(Fonte: AMBEV, 2014).

Além das leveduras cultivadas utilizadas no processo fermentativo, pode-se optarpor um processo espontâneo, realizado por agentes presentes no meio ambiente e pelas denominadas leveduras selvagens, produzindo as cervejas do tipo Lambic. Este é o processo mais antigo de fabricação de cerveja que garante uma vasta gama de aromas e sabores [3].

Outro microrganismo com aplicação promissora em fermentação alcoólica é a bactéria *Zymomonas mobilis*. Ela apresenta inúmeras vantagens, como fermentaçõesmais rápidas, alto rendimento de produção de álcool, condições de crescimento maissimples, entre outros. Contudo, seu rendimento é afetado quando o carboidrato utilizado para a fermentação é a sacarose, pois há a formação de subprodutos comolevana e sorbitol, sendo menos rentável que as leveduras [28].

2.7.4. DOSAGEM DE FERMENTO

A dosagem de levedura deve levar em conta o tipo de fermentação desejado e oextrato primitivo do mosto. Objetivando reduzir o tempo de fermentação e produzir uma cerveja de boa qualidade, economizando tempo e dinheiro, adota-se a estratégia de maximizar a concentração celular no fermentador. Todavia, o aumento da dosagem de fermento pode ser prejudicial para a levedura e perfil sensorial da cerveja [29].

Esse aumento na proporção de levedura demandará maior energia para manutenção, ou seja, aumentará o consumo de açúcar para sobrevivência, acelerando o processo fermentativo. Porém, resultará em uma competição pelos nutrientes do meio, afetando a

viabilidade do fermento [19].

Dessa forma, é necessário otimizar a dosagem de fermento, de forma a conciliar as condições a seguir [11]:

- produzir uma fermentação na velocidade adequada;
- alcançar o perfil de voláteis apropriado;
- conseguir um bom estado de conservação da levedura para posterior reutilização;

2.7.5. VIABILIDADE CELULAR

Como visto, a atividade da levedura durante o processo fermentativo é imprescindível para a produção de cerveja de boa qualidade. Além da escolha adequada do agente de fermentação e da quantidade dosada, é de extrema importância a avaliação da viabilidade e estado de conservação desse fermento.

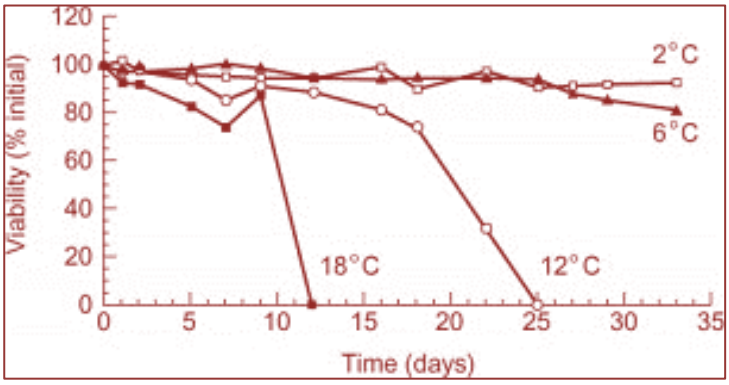
Para que a levedura mantenha um bom estado de conservação, sua estocagem deve ser feita de modo a prevenir contaminações microbiológicas e mudanças em suas condições fisiológicas. O período de armazenamento, em que a levedura recolhida aguarda nova dosagem, é um período de escassez de nutrientes, portanto, há o consumo de suas reservas, principalmente do glicogênio[7] [11].

Há diversas formas de se avaliar a viabilidade do fermento, sendo o teor de glicogênio no fermento uma delas. Ao que muitos estudos indicam, os níveis de glicogênio na célula têm influência sobre a taxa de multiplicação celular e o desempenho da fermentação [30].

Em um primeiro momento, o processo de assimilação das reservas de glicogênio é lento, seguido por um segundo momento de rápido decréscimo. Esse comportamento é semelhante ao da viabilidade da levedura. De acordo com a Figura 9, a duração de cada etapa é determinada pela temperatura de estocagem. Em temperaturas mais amenas, a viabilidade se mantém, enquanto em temperaturas elevadas, a perda da viabilidade ocorre mais rapidamente. Além disso, é incontestável que ocorrem, também, mudanças fisiológicas na levedura que impactarão sua próxima performance [13].

[7] Macromolécula formada por cadeia linear ou ramificada de monossacarídeos que, em leveduras, tem como função compor as reservas de energia da célula.

Figura 9. Efeito de diferentes temperaturas de estocagem na viabilidade da levedura



(Fonte: Boulton, Quain, 2001).

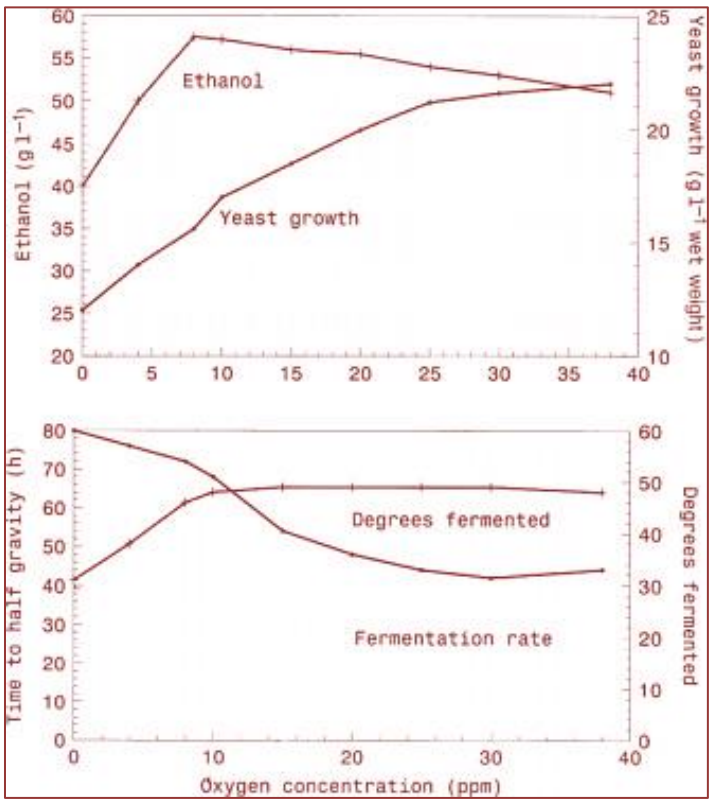
O armazenamento prolongado em altas temperaturas causa um esgotamento dasreservas de glicogênio da levedura. Essas condições refletem em um processo fermentativo com baixa multiplicação celular, demora na atenuação do extrato e altosteores de diacetil. Em contrapartida, níveis limitados de glicogênio favorecem a síntese de acetaldeído e SO_2 [30].

2.7.6. AERAÇÃO

O oxigênio é necessário para que o fermento sintetize esteróis e ácidos graxos insaturados, importantes para a composição da membrana celular. O teor de oxigêniono mosto define a extensão da multiplicação celular durante a fermentação [17].

Há uma tendência em oxigenar o mosto em excesso, de modo a evitar problemas de fermentação lenta e baixo crescimento de leveduras. Contudo, é preciso um equilíbrio entre a velocidade de fermentação e a geração de biomassa para evitar queda na eficiência da fermentação. Uma alta concentração de oxigênio dissolvido levará a uma multiplicação celular exacerbada, por ser a via metabólica mais energeticamente favorável, e essa mudança no padrão de assimilação de carbono é compensada pela redução no rendimento de etanol, como mostra a Figura 10 [13].

Figura 10. Efeito da concentração de oxigênio dissolvido no mosto sobre a multiplicação celular, produção de etanol e taxa de fermentação



(Fonte: Boulton, Quain, 2001).

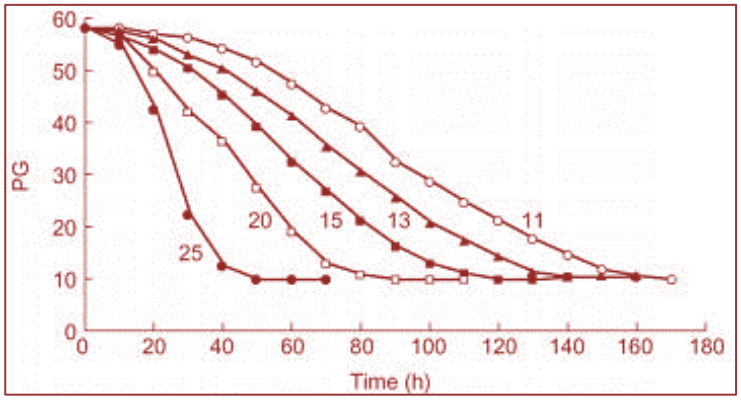
Ao promover o crescimento celular, o oxigênio também favorece a formação de compostos voláteis, como os álcoois superiores, e limita a formação de ésteres e SO2 [11,24].

2.7.7. TEMPERATURA

É comum realizar, durante o processo cervejeiro, regulações na temperatura, seja aumentando-a (para acelerar uma fermentação amarrada) ou diminuindo-a (para compensar a formação de compostos indesejáveis) [31].

Isso ocorre porque a temperatura está totalmente relacionada com a velocidade da fermentação e com rápida atenuação de extrato, pois têm influência sobre a taxa de multiplicação celular e velocidade das reações metabólicas [11]. Com o aumento da taxa de multiplicação celular, há maior produção de aminoácidos pela levedura, que serão utilizados em suas vias metabólicas e na síntese de proteínas que compõem sua parede celular, desfavorecendo a formação de SO2 [24]. Observando a Figura 11, que mostra o perfil de atenuação de extrato em uma faixa de temperatura entre 11 e 25°C, presume-se, equivocadamente, que é mais benéfico fermentar a cerveja na temperatura mais alta possível [13].

Figura 11. Efeito da temperatura na velocidade de fermentações piloto, com taxa de inoculação de $12x10^6$ cels/ml e concentração inicial de oxigênio dissolvido de 25ppm



(Fonte: Boulton, Quain, 2001).

O emprego de temperaturas muito elevadas faz com que ocorra a perda acentuada de voláteis, além dos que já são arrastados pelo CO_2, o que é inaceitável para a produção e qualidade da cerveja [13]. Em decorrência de uma maior velocidade de fermentação, a formação de espuma também é favorecida em temperaturas elevadas, e o risco de autólise da levedura já sedimentada também aumenta, principalmente em fermentadores sem refrigeração no fundo do tanque [11].

A temperatura também está correlacionada com a formação de álcoois superiores [9] e com o processo de formação e absorção das dicetonas vicinais. Há um aumento do pico de formação de diacetil com temperaturas mais altas, porém, estas também favorecem sua redução mais rápida [11].

2.7.8. PRESSÃO

Durante a fermentação, os efeitos da pressão se manifestam de três formas, todas com potencial para afetar o desempenho do processo. No primeiro caso, as células estão sujeitas à pressão osmótica, relacionada a composição do mosto. Também há interferência da pressão hidrostática, gerada pela altura da cerveja no fermentador. Por fim, há a pressão ocasionalmente aplicada aos tanques por meio da restrição de saída do CO_2 [11].

Embora as leveduras sejam resistentes a altas pressões, fermentações realizadas sob pressão extrema causam efeitos deletérios em suas células. Além disso, com o aumento da pressão, há um aumento da concentração de CO_2 dissolvido, inibindo uma série de reações na célula, freando a multiplicação celular e a formação de álcoois superiores e ésteres correspondentes. Já pressões moderadas não danificam as leveduras e são utilizadas como estratégia para um bom controle da formação de ésteres. Entretanto, compostos indesejados, como o DMS, precisam ser volatilizados, e um balanço inadequado de pressão pode prejudicar este processo [13].

3. ANÁLISE DE PROCESSO

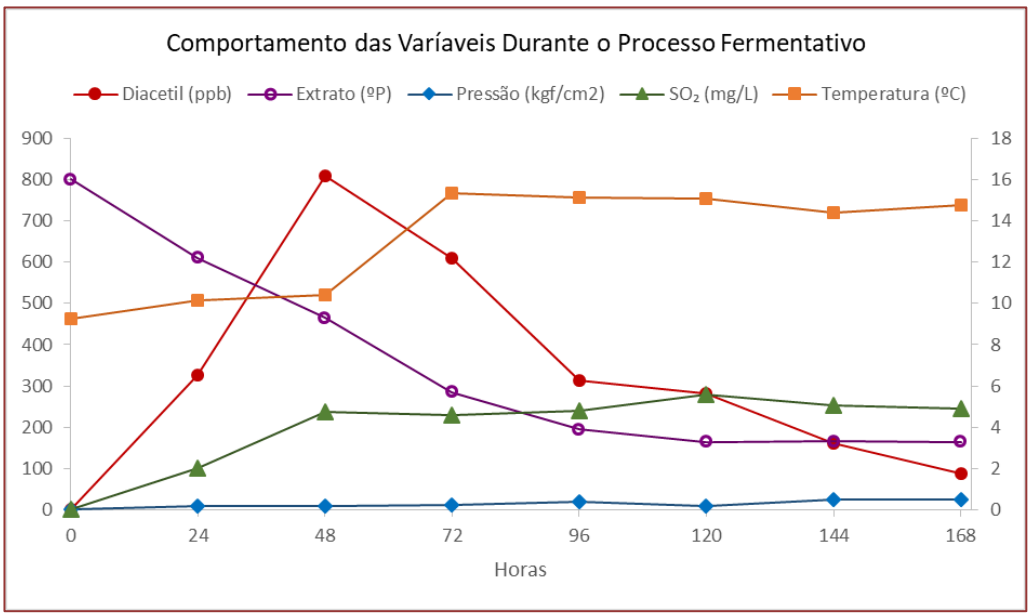
Com base nas informações levantadas na revisão bibliográfica, foi feita uma análise do processo fermentativo em uma cervejaria do interior de São Paulo, de modoa observar na prática a influência da temperatura, pressão, aeração, quantidade de fermento dosada e sua viabilidade sobre a atenuação de extrato, formação de diacetile de SO2 em uma cerveja Lager.

Para esta avaliação, as condições iniciais de fermentação foram:

- Geração do fermento dosado: 5
- Tempo de estocagem do fermento: 33,42 horas
- Temperatura de estocagem do fermento: 2,4 °C
- Quantidade de fermento dosada: 6.500 kg
- Volume de mosto: 3.600 hl (quatro cozimentos de 900 hl)
- Condição de aeração: 85% do volume aerado
- Extrato inicial da fermentação: 16 °P
- Temperatura inicial de fermentação: 9,25 °C

O valor das variáveis diacetil, extrato, pressão, SO_2 e temperatura foram registrados a cada 24 horas, durante sete dias de fermentação. Ao final da fermentação, espera-se que a porcentagem de atenuação de extrato esteja entre 77,5e 81,5, a concentração de SO_2 entre 3 e 6 mg/L e que o teor de diacetil esteja abaixode 90 ppb. O resultado está expresso em um gráfico na Figura 12, em que cada variável é representada por uma cor.

Figura 12. Comportamento das variáveis diacetil, concentração de extrato, pressão, SO2 etemperatura durante 168 horas de fermentação



Observando a curva de temperatura, representada pela cor laranja, nota-se que nas primeiras 48 horas as temperaturas foram mais baixas, na faixa de 9,5 °C a 10,5°C de modo a limitar a multiplicação celular e a formação do precursor α-acetolactato. Após 48 horas de fermentação, a temperatura foi elevada para uma faixa de 14,5°C a15,5 °C, favorecendo a conversão desse precursor em diacetil, e também sua redução pela levedura. Essa estratégia condiz com a curva de formação de diacetil, representada pela cor vermelha, que atinge seu pico (810 ppb) por volta das 48 horasde fermentação, seguido pelo declínio das concentrações devido a absorção pela levedura.

Em relação a curva de extrato, representada pela cor roxa, esta apresentou uma queda uniforme, não sofrendo grandes variações de concentração a partir das 120 horas de fermentação. Ao final dos 7 dias, a porcentagem de atenuação de extrato foi de 79,38%. Este resultado é consequência de uma aeração e dosagem de fermento balanceadas, além de uma estratégia de temperatura adequada.

Para os níveis de SO_2, representados pela cor verde, o gráfico mostra resultadospositivos. Como visto na literatura, fatores que favorecem a multiplicação celular limitam a síntese desse composto. Um fator que provavelmente favoreceu este resultado foram as condições de estocagem do fermento, que apesar de estar em sua 5ª geração e passar um tempo considerável armazenado, levando a altas taxas de SO_2, conseguiu manter boas condições fisiológicas para a levedura, não afetando o desempenho na atenuação de extrato. A tendência crescente da concentração desse composto na cerveja sofreu um pequeno desvio após 48 horas de fermentação. Comonão houve variação significante nos demais parâmetros do processo, supõe-se falhana análise.

O nível máximo de SO2 (5,57 mg/L) foi atingido em 120 horas de fermentação, quando a multiplicação celular já não era tão intensa. Após o pico, houve uma leve queda em sua concentração, indicando interferência de algum outro fator. Tal fato pode ser explicado com resultados de pressão.

A estratégia utilizada para a pressão foi de valores mais baixos, na faixa de 0,10 a 0,15 kgf/cm^2, durante as primeiras 96 horas de fermentação, para que compostos voláteis indesejados, que conferem características sensoriais desagradáveis, de cervejas inacabadas, fossem dissipados e para que não tivessem efeitos prejudiciais sobre a levedura, impedindo sua multiplicação e a formação de ésteres. Em uma 2ª fase, a pressão foi intensificada, chegando na faixa de 0,40 a 0,50 kgf/cm^2, com o intuito de reter os aromas característicos de uma cerveja finalizada e também os compostos benéficos.

O comportamento explícito no gráfico para essa variável indica que houve uma perda de pressão no tanque fermentador por volta de 120 horas de fermentação, quecoincide com o momento da queda nos valores de SO2. Ainda assim, os níveis de formação do composto foram satisfatórios e com um ajuste na pressão, foi possível contornar o problema de estanqueidade do fermentador e se obter um valor final de SO2 na fermentação de 4,88 mg/L.

3.1. MAPEAMENTO DE PROCESSO

A partir do referencial teórico, ratificado em campo, foi realizado um mapeamentodo processo (Tabela 3) de modo a esclarecer a influência de cada etapa da produçãocervejeira no desempenho fermentativo e respectivos itens a serem verificados para um bom controle de processo.

Tabela 3. Mapeamento de processo e respectivos indicadores para controle

Etapa do Processo	Causa	Indicador 1	Indicador 2	Indicador 3	Indicador 4
Beneficiamento do malte	Qualidade da matéria-prima	Análise sensorial/visual	FAN do malte	Poder Diastático	
Mosturação	Ineficiência deconversão dosaçúcares	Tempos de repouso	Temperaturas de repouso		
Aeração	Aeração inadequada	Estratégia de aeração			
Resfriamento	Temperaturainadequada	Temperaturado mosto			
Dosagem de Fermento	Estocagem dofermento	Temperatura de estocagem	Tempo de estocagem	Geração do fermento	Desempenhona fermentação
Dosagem de Fermento	Dosagem de fermento	Massa dosada	Viabilidade do fermento		
Fermentação	Temperaturainadequada	Curva de temperatura			
Fermentação	Pressão inadequada	Curva depressão			

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bioquímica da fermentação alcoólica e os percursos envolvidos durante esse processo são bem elucidados, e é possível visualizar na prática as interações mencionadas na literatura.

Apesar das relações explícitas entre as variáveis que afetam o processo fermentativo, suas interações são bastante complexas e a busca pelo equilíbrio entreelas é fundamental para um bom desempenho final.

As estratégias empregadas de aeração, temperatura e pressão na fermentação em análise resultaram em um processo fermentativo promissor, com boa atenuação de extrato, formação e absorção de diacetil e concentração final de SO_2. Ainda assim,ocorreram falhas no controle do processo.

Dessa forma, o controle de processo é a base de um processo fermentativo consistente. Por meio de indicadores chave, faz-se o monitoramento de todo o processo, minimizando variações que possam afetar o equilíbrio entre os fatores fundamentais, resultando em um produto de qualidade e a frente da concorrência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus orientadores, Prof. Dr. Waldemar Venturini e Profª. Drª. Kassandra Oliveira pela orientação, paciência e todos os ensinamentos ministrados durante o curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Admiro-os e considero-os grandes inspirações para minha vida profissional.

À minha família, principalmente à minha mãe, Mariana Schmidt, por sempre acreditar em mim, me incentivar e por não medir esforços para me ajudar a alcançar meus objetivos.

Ao Time Processo Cerveja, em especial à Juliana Foresti, Isis Berbel e Julio Comin, pela oportunidade de estágio, em que eu aprendo muito diariamente, por transmitirem a paixão cervejeira, pela confiança em mim e por todo o suporte para meu desenvolvimento. Ao João Linhares, por me receber tão bem, por suas explicações entusiasmadas sobre o processo cervejeiro e pela parceria.

À Bioprox Júnior, pela experiência mais gratificante da minha graduação, que mecapacitou e me fez acreditar que devemos sonhar grande.

Por fim, agradeço aos meus amigos e futuros colegas de profissão, que compartilharam das incertezas de um curso novo e deixaram esses anos de graduação mais leves. Muito sucesso para nós!

REFERÊNCIAS

[1] DRAGONE, G.; SILVA, J. B. D. A. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas**. 1ª. ed. [S.l.]: Blucher, v. 1, 2010. Cap. 2, p. 15-67.

[2] ROTOLO, T.; MARCUSSO, E. A cerveja no Brasil Holandês: notas sobre a instalação da primeira cervejaria no Brasil. **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 73-93, Julho 2019.

[3] MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A Produção de Cerveja no Brasil. **Revista Citino**, v. 1, n. 1, p. 34-42, Dezembro 2011.

[4] SINDICERV. **Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja**, 2016. Disponivel em: <https://www.sindicerv.com.br/>. Acesso em: 03 Abril 2020.

[5] VENTURINI, W. G.; CEREDA, M. P. Cerveja. In: AQUARONE, E., et al. **Biotecnologia Industrial**. 6ª. ed. São Paulo: Blucher, v. 4, 2014. Cap. 4, p. 91-144.

[6] BRASIL. Decreto nº 9.902, de 8 de julho de 2019. Altera o Anexo ao Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, ano 2019, n. 130, p. 1, 9 jul. 2019.

[7] 7CRESCENTI, M. BBC. **BBC News**, 2016. Disponivel em: <https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2016/01/160119_500_anos_lei_c erveja_alemanha_rb>. Acesso em: 30 Março 2020.

[8] SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O Processo de Fabricação da Cerveja e Seus Efeitos na Presença de Polifenóis. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 491-498, Outubro 2008.

[9] KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 3ª. ed. Berlim: VLB Berlin, 2004.

[10] JUNIOR, A. A. D.; VIEIRA, A. G.; FERREIRA, T. P. Processo de Produção de Cerveja. **Processos Químicos**, v. 3, n. 6, p. 61-71, Julho 2009.

[11] AMBEV. **Programa de Formação Técnica de Cervejeiros**. [S.l.]: [s.n.], 2014.

[12] ROSA, A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 98-105, Maio 2015.

[13] BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast and Fermentation**. 1. ed. Oxford: Blackwell Science, v. 1, 2001.

[14] AMBEV. **Apresentação de Integração na Função**. Material Interno. Agudos, 10 out. 2018.

[15] TSCHOPE, E. C. **Microcervejarias e Cervejarias**: a História, a Arte e a Tecnologia. 1ª. ed. São Paulo: Aden, v. 1, 2001.

[16] ABOUMRAD, J. P. C.; BARCELLOS, I. C. M. **Análise e Simulação das Operações de Mosturação e Fermentação no Processo de Produção de Cervejas**. Universidade Federal Fluminense. Niterói, p. 82. 2015.

[17] NASCIMENTO, J. **Estudo do Efeito da Aeração do Mosto nas Características do Processo Cervejeiro**. Universidade de São Paulo. Lorena, p. 50. 2011.

[18] NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

[19] LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: LIMA, U. A., et al. **Biotecnologia Industrial**. 6ª. ed. São Paulo: Blucher, v. 3, 2014. Cap. 1, p. 1-45.

[20] BOKULICH, N. A.; BAMFORTH, C. W. The Microbiology of Malting and Brewing. **Miccrobiology and Molecular Biology Reviews**, v. 77, n. 2, p. 157-172, Junho 2013.

[21] KUCK, L. S. **Cerveja: Aroma e Sabor**. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, p. 47. 2008.

[22] VERSTREPEN, K. J. et al. Flavor-Active Esters: Adding Fruitiness to Beer. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 96, n. 2, p. 110-118, Março 2003.

[23] CARVALHO, G. B. M.; ROSSI, A. A.; SILVA, J. B. D. A. Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 2ª Fase - A fermentação. **Analytica**, v. 6, n. 26, p. 46-55, Janeiro 2007.

[24] WUTTKE, C. **Estudo de caso: Avaliação da formação de SO2 na etapa de fermentação em uma cervejaria do RS**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 34. 2018.

[25] AMBEV. **Treinamento Formação e Retenção de SO2**. Material Interno. Agudos, 8 maio 2020.

[26] PORTO, P. D. D. **Tecnologia de Fabricação do Malte: Uma Revisão**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 58. 2011.

[27] MOSHER, M.; TRANTHAM, K. **Brewing Science**: A Multidisciplinary Approach. 1ª. ed. Cham: Springer, v. I, 2017.

[28] ERNANDES, F. M. P. G.; GARCIA-CRUZ, C. H. Zymomonas mobilis: um microrganismo promissos para a fermentação alcoólica. **Ciências de Alimentos**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 361-380, Junho 2009.

[29] VERBELEN, P. J. et al. Impact of pitching rate on yeast fermentation performance and beer flavour. **Applied Microbial and Cell Physiology**, Heverlee, 2009. 155-167.

[30] PICKERELL, A. T. W.; HWANG, A.; AXCELL, B. C. Impact of Yeast-Handling Procedures on Beer Flavor Development During Fermentation. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 9, n. 2, p. 87-92, 1991.

[31] GEE, A.; RAMIREZ, W. F. Optimal Temperature Control for Batch Beer Fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, Boulder, 1988. 224-234.

Capítulo 8

Poligalacturonases bacterianas: técnica de cultivo misto e extração de carotenóides

Roze Anne Ferreira Lima
Luciana Pereira de Araújo
Catarina Francisca Morais Lima Carvalhinho
Erika Carolina Vieira Almeida
Rafael Firmani Perna
Ezequiel Marcelino da Silva
Jéssica Ferreira de Almeida
Raynne Oliveira Alves
Glêndara Aparecida de Souza Martins
Alex Fernando de Almeida
Larissa Santos Saraiva

Resumo: As poligalacturonases são enzimas que degradam substâncias pécticas, quebrando as ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica dessas moléculas. Essas enzimas detêm várias aplicações biotecnológicas nas indústrias de alimentos, como a extração e clarificação de sucos de frutas e vinhos, extração de óleos essenciais, tratamento preliminar do suco de uva para indústrias vinícolas, amadurecimento das frutas, entre outros. Considerando a necessidade de mais informações referentes à produção de poligalacturonases, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura em bancos de dados científicos como SciELO - Scientific Electronic Library Online, Portal de Periódicos Capes, PubMed. Com o intuito de colaborar com pesquisas futuras foram abordados neste trabalho os frutos amazônicos, a classificação e o mecanismo de ação das poligalacturonases, a produção em culturas mistas e a extração de carotenoides. Além de apresentar propriedades nutricionais, as frutas têm grande importância como fonte de microrganismos com potencial para obtenção de microrganismos. A produção de enzimas industriais é um importante pré-requisito para aplicações biotecnológicas de sucesso. As culturas mistas possuem uma alta taxa de evolução, proporcionando rendimentos favoráveis.

Palavras-chave: poligalacturonase, enzimas, culturas mistas, carotenoides.

1. INTRODUÇÃO

As enzimas são biomoléculas compostas por polímeros de aminoácidos que atuam como catalisadores, facilitando a conversão de substratos em produtos no metabolismo dos organismos vivos, exibindo alta especificidade (Alexander et al., 2017). A maioria das enzimas são proteínas que podem atuar tanto no interior das células, denominadas enzimas intracelulares, como também serem secretadas, sendo denominadas enzimas extracelulares. Entre as enzimas extracelulares, as enzimas pectinolíticas formam uma classe que atuam sobre substâncias pécticas, quebrando as ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica dessas moléculas. De acordo com o Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB), as poligalacturonase são classificadas em três grupos conforme o seu mecanismo de ação: esterases – que catalisam a desesterificação da pectina pela remoção de resíduos de acetil e metoxila, resultando em ácido poligalacturônico. Elas são ainda subdividas em pectina metil esterases (PME, E.C 3.1.1.11) e pectina acetil esterase (PAE, E.C 3.1.1.6). Protopectinases solubilizam a protopectina (encontrada na fruta verde) para formar pectina solúvel (encontrada na fruta madura). E as despolimerases quebram as ligações glicosídicas entre os resíduos galacturônicos via transeliminação (liases) (PL, E.C 4.2.2.2) (pectato liases e pectina liases) ou hidrólise (hidrolases) (PG, E.C 3.2.1.15) (exo ou endo – poligalacturonases) (vaz et al., 2021). As pectinases são compostas principalmente por poligalactoronase (EC 3.2.1.15), pectina liase (EC 4.2.2.10) e pectina metil esterases, que degradam substâncias pécticas presentes nas paredes celulares vegetais, reduzindo a viscosidade e clarificando suco de frutas (Nawawi et al., 2022).

A diversidade do bioma brasileiro oferece uma vasta fonte de substâncias produzidas por microrganismos. A floresta amazônica ocupa uma área de 4.196.943 km^2 e corresponde a mais de 40% do território brasileiro, é constituída por uma floresta tropical. Além de ser conhecida mundialmente por sua grande biodiversidade, contendo aproximadamente 25% da biodiversidade global, desempenha um papel essencial no funcionamento do sistema terrestre (Paz et al., 2018). Muitas das frutas exóticas da Amazônia são normalmente colhidas na natureza ou cultivadas principalmente para o consumo local na forma de polpa ou *in natura*, resultando em um baixo valor agregado desses alimentos (Pereira et al., 2018). Entre as frutas amazônicas, destacam-se o bacupari e o tucumã. Atualmente, essas plantas têm recebido atenção especial da comunidade científica, sendo necessária a implementação de políticas públicas que incentivem o cultivo e a exploração sustentável dessas plantas (Panic et al., 2019). Essas frutas, além de apresentar propriedades nutricionais, as frutas têm grande importância como fonte de microrganismos com potencial para obtenção de microrganismos endofíticos. Endofíticos são combinações de microrganismos e plantas que vivem constantemente nas plantas, supostamente sem prejudicar seus hospedeiros. Comumente são localizados nas folhas, frutos, raízes, caules, flores e sementes. Esses microrganismos formam um grupo de interesse potencial para a criação de vários bioprodutos, como por exemplo, enzimas (Vespermann et al., 2017).

A produção de enzimas industriais é um importante pré-requisito para aplicações biotecnológicas de sucesso. A caracterização bioquímica das enzimas oferece informações que podem ser utilizadas para ajudar a melhorar a estabilidade e manutenção da atividade catalítica da enzima, por um maior período (Yu; Xu, 2018). As formas de produção e caracterização da poligalacturonase estão associadas ao cultivo submerso e em estado sólido. No cultivo submerso, os microrganismos são cultivados em meio líquido, enquanto na fermentação em estado sólido, ocorre o crescimento microbiano e a

formação de produto sobre ou dentro de partículas de um substrato sólido. Neste sentido as enzimas são produzidas a partir de realizações analíticas quanto ao pH, temperatura, tempo de incubação e especialidade do substrato (Chowdhury et al., 2017).

Os sistemas de cultura mista utilizam consórcios microbianos indefinidos, ao contrário das culturas puras que utilizam espécies microbianas definidas para a produção. As culturas mistas possuem uma alta taxa de evolução, proporcionando rendimentos favoráveis. Desempenha funções de transmitir sinais moleculares e comunicar-se entre si. Assim, a utilização de sistemas de cultura mista contribui para a utilização do substrato e para a eficiência da degradação em um ritmo mais rápido em comparação com sistemas de cultura pura (Baghchehsaraee et al., 2010).

Diante o exposto, as enzimas poligalacturonases são de grande importância para a indústria de alimentos, com isto, o objetivo desta pesquisa foi realizar uma revisão da literatura sobre a exploração de novas fontes de microrganismos produtores de enzima a partir dos frutos amazônicos.

2. POLIGALACTURONASE

As poligalacturonases foram as primeiras enzimas industrialmente utilizadas, com suas aplicações descritas inicialmente em 1930. Nesta década, as indústrias de processamento de frutas começaram a produzir sucos, mas, os rendimentos eram baixos, e muitas dificuldades foram encontradas na extração, clarificação ou filtração do suco. Kerte`sz e Mehlitz foram os primeiros a descrever sobre a facilidade de filtragem de vários sucos após tratamento enzimático. Mas, apenas na década de 1960, o conhecimento acerca dos tecidos vegetais tornou-se evidente, permitindo a expansão no mercado de enzimas (Kumar, 2015).

Os componentes estruturais de uma parede celular vegetal são polissacarídeos complexos, como a celulose, a hemicelulose, substâncias pécticas e lignina (Danalache et al., 2018). A celulose e a hemicelulose fornecem resistência à parede celular, enquanto as substâncias pécticas atuam como uma substância cimentante para a rede de celulose. As pectinas são macromoléculas glicosídicas complexas de alta massa molecular que contribuem para processos fisiológicos como a diferenciação celular ou o crescimento celular, sendo em grande parte responsáveis pela integridade estrutural e coesão dos tecidos vegetais (Sharma et al., 2006; Nigam; Pandey, 2009). Do ponto de vista químico, as pectinas são compostas principalmente por um esqueleto de unidades de ácido galacturônico, ligadas por ligações α-1-4-glicosídicas, onde os grupos carboxila são parcialmente esterificados por grupos metil ou parcialmente/totalmente neutralizados por sódio ou íons amônio e grupos hidroxila podem ser acetilados (Sriamornsak, 2003).

Dependendo de sua forma química, as pectinas são classificadas como fibras solúveis ou insolúveis (não sendo absorvido pelo trato digestivo humano) (Eastwood, 1992). Estão presentes principalmente na forma de protopectina insolúvel em frutos verdes, que é transformada em pectina solúvel durante o amadurecimento. Protopectinases, que são enzimas naturais, responsáveis por essa modificação que envolve a quebra das cadeias pécticas, o que causa a maciez das frutas durante o amadurecimento (Jayany; Sexana, 2005).

2.1. CLASSIFICAÇÃO E MECANISMO DE AÇÃO DAS POLIGALACTURONASES

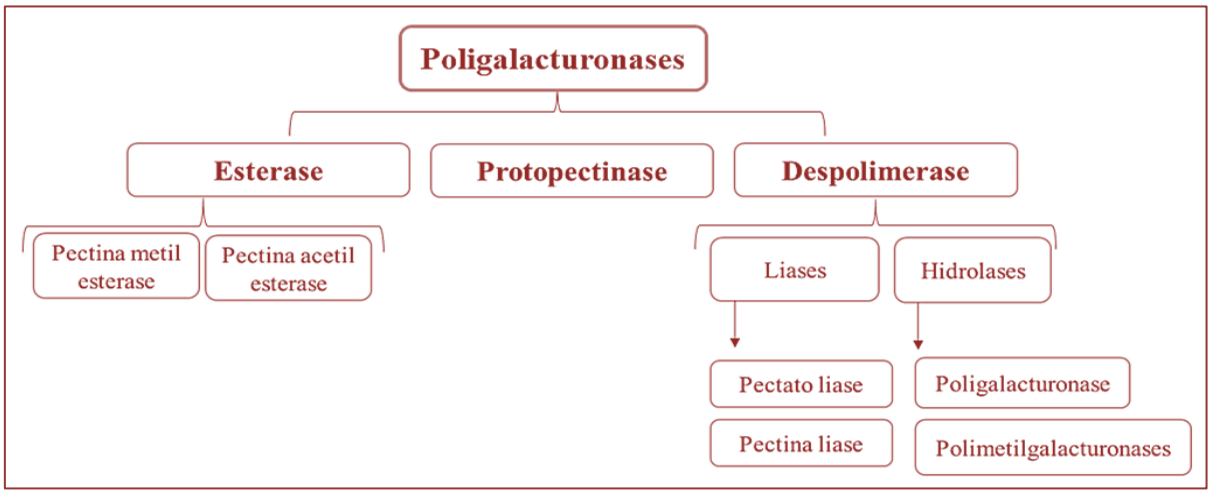
As poligalacturonases ou enzimas pectinolíticas são um grupo complexo de enzimas que catalisam a degradação de várias substâncias pécticas (pectina). A classificação das poligalacturonases se dá pelo modo de ataque às moléculas dos polímeros pécticos; pela preferência pelo substrato (pectina, ácido péctico ou protopectina); e na ação, seja ela por transeliminação ou hidrólise e por clivagem randômica (enzima endo) ou terminal (enzima exo). Existem basicamente três grupos principais de enzimas pectinolíticas (Figura 1): protopectinases, esterases e despolimerases (Haile; Ayele, 2022; Satapathy et al., 2020).

As esterases catalisam a desesterificação da pectina pela remoção de resíduos de acetil e metoxila, dando origem a ácido poligalacturônico. São subdividas em pectina metil esterases (PME, E.C 3.1.1.11) e pectina acetil esterase (PAE, E.C 3.1.1.6). Sua ação está preferencialmente no grupo metil éster da unidade de galacturonato próxima a uma unidade não esterificada (Tabela 1) (Kayshap et al., 2001). Está presente em praticamente todas as preparações enzimáticas comerciais para proteção e melhoramento da textura e firmeza de frutas e vegetais processados e na extração e clarificação de sucos de frutas (Uenojo; Pastore, 2007).

As protopectinases solubilizam a protopectina (encontrada na fruta verde) para formar pectina solúvel (encontrada na fruta madura). Catalisam a solubilização da protopectina, uma vez que degradam o substrato insolúvel produzindo uma pectina solúvel altamente polimerizada (Tapre; Jain, 2014). As protopectinases são classificadas em dois tipos, com base no seu mecanismo de reação (Tabela 1) (Sakai; Okushima, 1982; Sakamoto; Hours; Sakai, 1994).). As do tipo A reagem com o sítio interno, ou seja, a região do ácido poligalacturônico da protopectina, enquanto as do tipo B reagem no local externo, ou seja, nas cadeias polissacarídicas que podem conectar a cadeia do ácido poligalacturônico e os constituintes da parede celular. As do tipo A são encontradas nos filtrados de cultura de leveduras e fungos semelhantes a leveduras (Jayany; Sexana, 2005) e do tipo B também foram encontradas no filtrado de cultura de uma ampla gama de Bacillus sp. (Sakai, 1992).

As enzimas despolimerases quebram as ligações glicosídicas entre os resíduos galacturônicos via transeliminação (liases) (PL, E.C 4.2.2.2) (pectato liases e pectina liases) ou hidrólise (hidrolases) (PG, E.C 3.2.1.15) (exo ou endo – poligalacturonases). Atuam sobre substâncias pécticas por dois mecanismos diferentes, a hidrólise, na qual catalisam a clivagem hidrolítica com a introdução de água através da ponte de oxigênio e a liase trans-eliminatória, na qual quebram a ligação glicosídica por uma reação de transeliminação sem qualquer participação da molécula de água (Tabela 1) (Kashyap et al., 2001; Jayani et al., 2005; Garg et al., 2016; Ramadã, 2019). As despolimerases podem ser subdivididas em quatro categorias diferentes, dependendo da preferência da enzima pelo substrato, do mecanismo de clivagem e da divisão das ligações glicosídicas (Tabela 1) (Jayany; Saxena, 2005). Poligalacturonase e polimetilgalacturonase quebram pectato e pectina, respectivamente pelo mecanismo de hidrólise (Tabela 1). Dependendo do padrão de ação, ou seja, aleatória ou terminal, essas enzimas são denominadas enzimas Endo ou Exo, respectivamente. As endo-PGases estão amplamente distribuídas entre fungos, bactérias e muitas leveduras (Luh; PAFF, 1951), também são encontradas em plantas superiores e alguns nematoides parasitas de plantas (Sakai et al., 1993). Em contraste, as exo-PGases ocorrem com menos frequência.

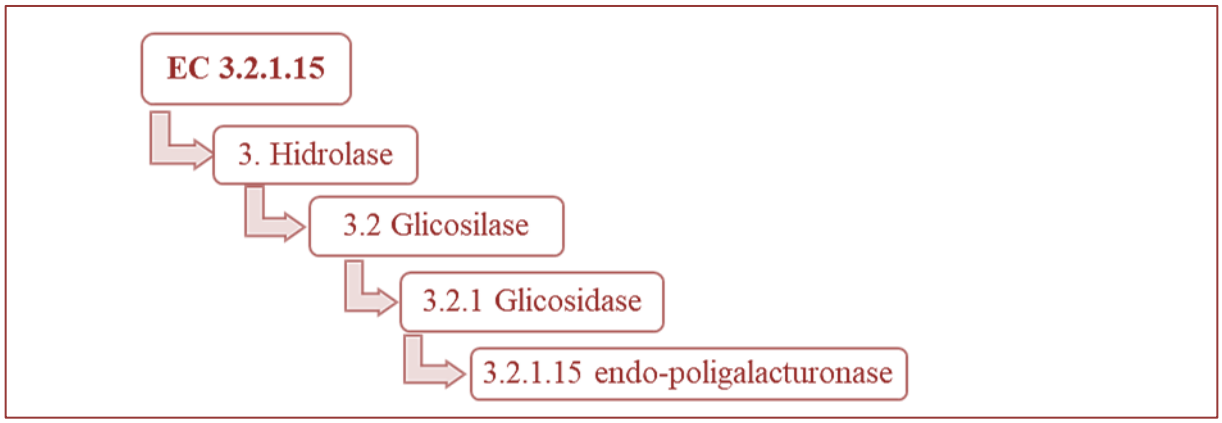
Figura 1 - Classificação das poligalacturonases



Fonte: Próprio Autor, 2024.

O desmembramento da nomenclatura das enzimas poligalacturonases (EC 3.2.1.15) são representadas na Figura 2. Estas enzimas são enzimas amplamente distribuídas em bactérias, fungos e plantas (Thakur et al., 2010).

Figura 2 - Nomenclatura das enzimas poligalacturonases



Fonte: Próprio Autor, 2024.

As poligalacturonases são utilizadas em diversos processos industriais convencionais, não apenas na extração de sucos de frutas e clarificação, mas também no processamento têxtil, fermentação de café ou chá, recuperação de óleos vegetais, maceração/desgomagem de fibras vegetais e fabricação de papel (Kashyap et al., 2001).

As enzimas pectinolíticas podem ser divididas em três grupos amplos (Tabela 1): as protopectinases, que degradam a protopectina insolúvel e dão origem a pectina solúvel altamente polimerizada; as esterases: catalisam a desesterificação da pectina pela remoção de ésteres metoxi; e as despolimerases, que catalisam a clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas α-(1 → 4) do ácido d-galacturónico das substâncias pécticas (Jayany; Saxena, 2005).

Tabela 1 - Classificação das poligalacturonases de acordo com seu modo de ação

Enzima	Mecanismo de ação	Padrão de ação	Substrato primário	Produto
Protopectinase	Hidrólise	Aleatório	Protopectina	Pectina
Esterase				
Pectina metil esterase	Hidrólise	Aleatório	Pectina	Ácido péctico + metanol
Pectina acetil esterase	Hidrólise	Aleatório	Pectina	Ácido péctico + metanol
Despolimerase				
Hidrolases				
Endopoligalacturonase	Hidrólise	Aleatório	Ácido péctico	Oligogalacturonatos
Exopoligalacturonase	Hidrólise	Terminal	Ácido péctico	Monogalacturonatos
Exopolygalacturonan-digalacturono hydrolase	Hidrólise	Penúltimo vínculo	Ácido péctico	Digalacturonatos
Oligogalacturonase hydrolase	Hidrólise	Terminal	Trigalacturonato	Monogalacturonatos
Endopolimetil-galacturonases	Hidrólise	Aleatório	Pectina altamente esterificada	Oligometilgalacturonatos
Endopolimetil-galacturonases	Hidrólise	Terminal	Pectina altamente esterificada	Oligogalacturonatos
Liases				
Endopoligalacturonase liase	Trans-eliminação	Aleatório	Ácido péctico	Oligogalacturonatos insaturados
Exopoligalacturonase liase	Trans-eliminação	Penúltimo vínculo	Ácido péctico	Digalacturonatos insaturados
Oligo-d-galactosiduronato liase	Trans-eliminação	Terminal	Digalacturonatos insaturados	Monogalacturonatos insaturados
Endopolimetil-d-galactosiduronato liase	Trans-eliminação	Aleatório	Poli-(metil-d-digalacturonatos) insaturados)	Metiloligogalacturonatos insaturados
Exopolimetil-d-galactosiduronato liase	Trans-eliminação	Terminal	Poli-(metil-d-digalacturonatos) insaturados)	Metilmonogalacturonatos insaturados

Fonte: Jayani; Saxena, 2005; Siero et al., 2012.

As poligalacturonases podem ser classificadas de acordo com a preferência do substrato utilizado, podendo atuar em pectina, ácido péctico, protopectina ou oligo-D-galacturonato. De acordo com o mecanismo de clivagem, as poligalacturonases podem ser chamadas de despolimerases ou esterases. Essas enzimas podem ainda ser nomeadas de acordo com o modo de ação; se hidrolisarem o substrato aleatoriamente, são endoenzimas, que levam à liquefação e despolimerização; se hidrolisam a partir das extremidades, são exoenzimas de sacarificação (Bhardwaj et al., 2017).

2.2. PRODUÇÃO DE POLIGALACTURONASE

Para a produção de poligalacturonases a partir de microrganismos existem duas técnicas de cultivos denominadas cultivos em estado sólido (CES) e cultivos submersos (CS). CES é definido como o cultivo de microrganismos em suportes sólidos húmidos, quer em suportes inertes carreadores ou em substratos insolúveis que podem ser usados como carbono e fonte de energia. Este processo ocorre na ausência ou quase ausência de água livre no espaço entre o substrato partículas. Neste sistema, a água está presente no

substrato sólido cuja capacidade de retenção de líquidos varia com o tipo de material (Oumer, 2017; Pandey et al., 2000). Em contraste, no CS os nutrientes e microrganismos estão ambos submersos na água. Aproximadamente 90% de todas as enzimas industriais são produzidas em CS, frequentemente, usando microrganismos manipulados geneticamente (Oumer, 2017).

3. CULTURAS MISTAS

Culturas mistas referem-se ao cultivo simultâneo de dois ou mais microrganismos diferentes em um mesmo ambiente. A coexistência desses microrganismos pode resultar em interações sinérgicas que beneficiam processos biotecnológicos, como a produção de enzimas como a poligalacturonase (Amin et al., 2019).

A adoção de culturas mistas na produção de poligalacturonase apresenta diversas vantagens, dentre elas, de potencializar a eficiência da produção. Essa abordagem permite a otimização de processos biotecnológicos complexos (Shrestha et al., 2021), além da capacidade de utilizar microrganismos com funções complementares que podem levar a um aumento substancial na qualidade e rendimento da poligalacturonase (Haile et al., 2022).

O processo de seleção dos microrganismos para culturas mistas é crucial para o sucesso da produção de poligalacturonase, que envolve a escolha de linhagens que possuam a capacidade de produzir diferentes tipos de poligalacturonase ou que apresentem sinergia metabólica (Haile et al., 2022; Shrestha et al., 2021). A combinação estratégica de microrganismos complementares desempenha um papel fundamental na eficácia da cultura mista. A interação entre os microrganismos em uma cultura mista é altamente dinâmica e multifacetada. Ela engloba a troca de metabólitos benéficos, a competição por recursos e a comunicação celular. Esses processos colaborativos desempenham um papel fundamental na eficiência e estabilidade da produção de poligalacturonase (Amin et al., 2019).

Comparadas às culturas puras, as culturas mistas oferecem uma série de vantagens notáveis. Elas demonstram uma maior estabilidade ao longo do processo produtivo, sendo capazes de utilizar substratos complexos de forma mais eficaz (Pachapur et al., 2019). Além disso, essa abordagem pode resultar em uma redução significativa na geração de resíduos, contribuindo para a sustentabilidade do processo.

As culturas mistas possuem rendimentos termodinamicamente favoráveis com configurações de cultivos simples, devido a sua alta taxa de evolução de hidrogênio. A cultura mista desempenha duas funções principais: transmitir sinais moleculares e comunicar-se entre si usando metabólitos (Pachapur et al., 2019), contribuindo para a divisão do trabalho para a fácil e rápida degradação do substrato complexo. Assim, o uso de sistemas de cultura mista auxilia na utilização do substrato e na eficiência de degradação em uma taxa mais rápida em comparação com sistemas de cultivo puro/co-cultivo (Baghchehsaraee et al., 2010).

Desenvolver e controlar culturas mistas apresenta desafios únicos. É necessário implementar estratégias para monitorar e ajustar as condições de cultivo, garantindo um ambiente propício para a interação sinérgica entre os microrganismos. A manutenção de condições ideais é essencial para maximizar a produção de poligalacturonase (Haile et al., 2022). As culturas mistas têm demonstrado sucesso em diversas aplicações industriais na produção de poligalacturonase. Setores como a indústria de alimentos, produção de

bebidas e indústrias de bioprocessos têm se beneficiado significativamente dessa abordagem, resultando em processos mais eficientes e econômicos (Baghchehsaraee et al., 2010).

A aplicação de técnicas de engenharia genética e biologia sintética pode potencializar ainda mais o desempenho das culturas mistas na produção de poligalacturonase. A manipulação genética pode ser empregada para otimizar a produção de enzimas e melhorar a sinergia metabólica entre os microrganismos (Amin et al., 2019).

O campo das culturas mistas na produção de poligalacturonase tem um futuro promissor. A integração de abordagens avançadas, como a aplicação de inteligência artificial para otimização de processos, promete impulsionar ainda mais a eficiência e aplicabilidade dessa técnica. Espera-se uma expansão contínua das aplicações industriais, consolidando as culturas mistas como uma ferramenta indispensável na produção de enzimas de interesse biotecnológico (Pachapur et al., 2019).

4. EXTRAÇÃO DE CAROTENOIDES

Frutas, vegetais e algas naturalmente têm pigmentos, sendo os principais, as clorofilas (cor verde), carotenoides (cor amarelo-laranja-vermelho), antocianinas (cor vermelho-azul-roxo) e betalanina (vermelho) (Rodriguez-Amaya, 2019; Miranda et al., 2021).

Carotenoides são pigmentos naturais, amplamente presentes em vegetais e frutas, como cenoura, tomate, milho, mamão, melancia, e em alguns peixes (salmão) e crustáceos (lagosta cozida, caranguejo e camarão) (Miranda et al., 2021). E ainda, originam a cor amarelo-avermelhado de diversos alimentos, pois são utilizados como aditivos (Rodriguez-Amaya, 2019).

Os carotenoides, incluindo licopeno, luteína, α-caroteno e β-caroteno, são uma das principais fontes de antioxidantes nos frutos de tomates. A cor vermelha dos tomates maduros é causada pelo licopeno, o carotenoide mais abundante, que representa mais de 85% dos carotenoides (Catalkaya; Kahveci, 2019).

Carotenoides são isoperóides lipofílicos que podem ser classificados de acordo com suas características químicas e nutricionais (Mussagy et al., 2019). Quimicamente, são classificados como carotenos, compostos apenas de átomos de carbono e hidrogênio e xantofilas que, além de carbono e hidrogênio, têm oxigênio em sua estrutura, como parte de um grupo funcional (Colmán-Martinez et al., 2016; Delgado-Pelayo et al., 2016; Cataldo et al., 2018; Miranda et al., 2021).

Quanto a suas propriedades nutricionais, os carotenoides são geralmente classificados como pró-vitamina A, ou seja, β-caroteno, β-criptoxantina e α-caroteno, ou não-provitamina A, ou seja, licopeno, luteína, zeaxantina (Maldonade et al., 2007; TOTI et al., 2018), e cetocarotenoides, como canthaxantina e astaxantina (Jayaraj et al., 2008).

Diante disso, além de seu amplo uso como corantes e no enriquecimento de alimentos, também são utilizados devido a sua atividade pró-vitamínica A e as propriedades que resultam em possíveis funções biológicas benéficas à saúde, tais como o fortalecimento do sistema imunológico e a diminuição do risco de doenças degenerativas (Anunciação et al., 2019). Sendo então muito utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de cosméticos e ração.

Ao longo das últimas décadas, houve esforços conjuntos para o desenvolvimento de métodos de extração aprimorados para carotenoides. No entanto, a recuperação de

matrizes alimentares complexa ainda é um desafio, devido a barreiras físicas e químicas presentes na matriz alimentar que impedem a transferência em massa de carotenoides durante a extração, bem como a presença de diversos conjuntos de carotenoides com níveis variados de polaridade que dificulta sua extração simultânea (Saini; Keum, 2018).

Devido à sua natureza hidrofóbica, carotenoides são convencionalmente extraídos usando solventes orgânicos. Geralmente, solventes não polares, como hexano, éter de petróleo ou tetrahidrofurano (THF), são uma excelente escolha para a extração de carotenos não polares ou xantofilas esterificadas, enquanto solventes polares como água, acetona, etanol e acetato etílico são mais apropriados para a extração de carotenoides polares. Os diferentes métodos utilizados para a extração de carotenoides de fontes naturais podem ser classificados em categorias: extração por solventes (SE), extração assistida por micro-ondas (MAE), extração assistida por ultrassom (EAU), extração líquida pressurizada (PLE), extração assistida em campo elétrico pulsado (PEFAE), extração de fluidos supercríticos (SFE), extração assistida por enzimas (EAE) e química verde (Saini; Keum, 2018; Liu et al., 2019; Cañadas et al., 2020).

Todas essas técnicas têm sido utilizadas para a extração de compostos presentes em matrizes alimentares. Alguns desses métodos (MAE, EAU, PLE, PFAE e SFE) têm sido intensamente exploradas para a extração de compostos bioativos, pois apresentam vantagens como maior eficiência, redução dos tempos de extração e menores custos de energia (Zia et al., 2020). A Tabela 2 apresenta as principais vantagens e desvantagens de vários métodos de extração.

Tabela 2 - Vantagens e desvantagens de métodos de extração de carotenoides

Método de Extração	Vantagens	Desvantagens
Extração por solventes (SE)	Método simples, rápido e econômico	Maior tempo para extração e baixo rendimento
Extração assistida por micro-ondas (MAE)	Método simples, rápido e econômico	Pode causar degradação térmica e *isomerização cis-trans* de carotenoides
Extração assistida por ultrassom (EAU)	Extração rápida, não térmica e eficiente	O envelhecimento da superfície da sonda ultrassônica pode alterar a eficiência de extração O tamanho de partículas pequenas (≈50 µm) é necessário para alcançar uma boa extração
Extração líquida pressurizada (PLE)	Rápido (poucos minutos), requer quantidade mínima de solvente orgânico Altamente aplicável a um contexto em escala de laboratório	Difícil de aplicar a grandes volumes devido ao entupimento causado por açúcares e pectinas de matrizes vegetais
Extração de campo elétrico pulsado (PEF)	Alto rendimento de extração Processo não térmico Baixo uso de energia	Altos custos de instrumentação Bolhas nas amostras podem causar problemas técnicos Parâmetros do FPE podem diferir com mudança na condutividade elétrica da amostra
Extração de fluido supercrítico (SFE)	Utiliza solvente não inflamável, não tóxico e reciclável (CO2 e etanol) Processo de extração contínua em vez de processamento em lote Útil para extração de compostos termolabianos Forneça carotenoides com alta pureza	Não é adequado para amostras contendo altas quantidades de água Baixo rendimento de carotenoides polares Alto custo de instrumentação
Extração assistida por enzimas (EAE)	Extração rápida e eficiente com uso mínimo de solventes	Alto custo das enzimas

Fonte: Saini e keum (2018); Miranda et al. (2021) modificado pela autora.

As enzimas são ferramentas altamente eficazes para catalisar uma variedade de processos químicos e biológicos (Das, Nadar, Rathod, 2021). Em comparação com solventes, elas consomem menos energia e apresentam menor impacto ambiental e riscos para a saúde, tornando-se uma opção mais sustentável (Mackenzie et al., 2015).

Esse poder catalítico das enzimas é aproveitado de forma eficaz na extração, facilitando a quebra da matriz celular e permitindo a liberação de metabólitos no solvente, o que melhora a recuperação de produtos de alto valor. Ao selecionar ou projetar uma enzima, é crucial considerar sua bioatividade, seletividade em relação ao substrato e estabilidade em condições desafiadoras, como pH extremo, alta temperatura e presença de solventes (Madhavan et al., 2017). Além das propriedades intrínsecas da enzima, a composição celular do substrato desempenha um papel crucial, uma vez que a rigidez da célula pode tornar o processo de extração mais desafiador.

4.1. EXTRAÇÃO DE CAROTENOIDES COM POLIGALACTURONASES

A extração assistida por enzimas tem chamado a atenção de pesquisadores devido à sua abordagem tecnológica eficiente, sustentável e *eco-friendly* (Das; Nadar; Rathod, 2021). Esta técnica oferece vantagens notáveis, incluindo alta eficiência e tempos de extração reduzidos. Seu princípio fundamental reside na quebra da parede celular da planta, permitindo a liberação de compostos valiosos presentes na camada intracelular, tais como materiais ativos e pigmentos de interesse (Sheldon et al., 2013).

A produção comercial de carotenoides a partir de microrganismos concorre principalmente com a produção sintética por procedimentos químicos. Atualmente, os carotenoides utilizados industrialmente são obtidos por via química ou extração de plantas e/ou algas (Valduga et al., 2009). Entretanto, devido à preocupação com o uso de aditivos químicos em alimentos, houve um crescente interesse nos carotenoides obtidos naturalmente por processos biotecnológicos.

Além da conotação intrínseca à natureza, os produtos resultantes da produção microbiana oferecem a vantagem de serem obtidos em um curto período de tempo, independentemente da estação do ano. A produção biotecnológica de carotenoides tem se destacado devido a diversos fatores, como a capacidade de utilizar substratos de baixo custo para a bioprodução, a autenticidade como substâncias naturais, a necessidade de um espaço físico reduzido para produção, não estando sujeita às condições ambientais como clima, estação do ano ou composição do solo, e a possibilidade de controle preciso das condições de cultivo (Das; Nadar; Rathod, 2021).

Muitos microrganismos produzem carotenoides, porém nem todos são industrialmente interessantes. As leveduras destacam-se pelo seu uso como fonte proteica, capacidade de crescimento em substratos de baixo custo e alto teor de açúcar. Os tipos de carotenoides e a quantidade relativa destes podem variar dependendo das condições do meio de cultura, temperatura, pH, taxa de aeração e luminosidade (Valduga et al., 2009).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As poligalacturonases apresentam grande importância comercial na indústria, por sua aplicação estar diretamente ligada a *extração de carotenoides e suas aplicações biotecnológicas. A região amazônica dispõe de uma grande* diversidade microbiana presente no solo e vegetais que coopera com estudos enzimáticos. Algumas técnicas de

cultivo são importantes para aumentar a produção de enzimas e, assim, viabilizar a produção para uma escala industrial. A adoção de culturas mistas na produção de poligalacturonase apresenta diversas vantagens, dentre elas, de potencializar a eficiência da produção e produzir um complexo enzimático que atue em sinergismo em aplicações industriais. Assim, a extração de carotenoides assistida por enzimas microbianas tem sido muito atrativa devido à preocupação do uso de aditivos químicos em alimentos, sendo uma alternativa ambientalmente viável para a extração de compostos bioativos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins – FAPT/Governo do Tocantins, PROCAD-Amazônia Legal (1707/2018) e ao PDPG-FAP pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor pelo apoio financeiro e científico.

REFERÊNCIAS

[1] ALEXANDER, S. P. H.; FABBRO, D.; KELLY, E.; MARRION, N. V.; PETERS, J. A.; FACCENDA, E.; HARDING, S. D.; PAWSON, A. J.; SHARMAN, J. L.; SOUTHAN, C.; DAVIES, J. A. The concise guide to pharmacology – Enzymes. **British journal of pharmacology**, Vol.174 (S1), p.S272-S359, 2017.

[2] AMIN, FAIZA.; BHATTI, H. N.; BILAL, M. Recent advances in the production strategies of microbial pectinases—A review. **International journal of biological macromolecules**, v. 122, p. 1017-1026, 2019.

[3] ANUNCIAÇÃO, P. C. et al. Identification and quantification of the native carotenoid composition in fruits from the Brazilian Amazon by HPLC–DAD–APCI/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 83, p. 103296, 2019.

[4] BAGHCHEHSARAEE, B.; NAKHLA, G.; KARAMANEV, D.; MARGARITIS, A. Fermentative hydrogen production by diverse microflora. **Internacional J. Energia de Hidrogênio**. v. *35*, p. 5021–5027, 2010.

[5] BHARDWAJ, V.; DEGRASSI, G.; BHARDWAJ, R. K. Microbiais pectinases and their applications in industries: a review. **Polymer**. v. 4, n. 08, 2017.

[6] CAÑADAS, R. et al. Overview of neoteric solvents as extractants in food industry: A focus on phenolic compounds separation from liquid streams. **Food Research International**, v. 136, p. 109558, 2020.

[7] CATALDO, V.; ARENAS, N.; LÓPEZ, J.; CAMILO, C.; AGOSIN, E. Sustainable production of β-Xanthophylls in Saccharomyces cerevisiae. In Mic Eng. USA, 2018.

[8] CATALKAYA, G.; KAHVECI, D. Optimization of enzyme-assisted extraction of lycopene from industrial tomato residues. **Technology of Separation and Purification**. v. 219, p. 55- 63, 2019.

[9] COLMÁN-MARTÍNEZ, M. et al. A new method to simultaneously quantify the antioxidants: carotenes, xanthophylls, and vitamin A in human plasma. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

[10] CHOWDHURY, T. I.; JUBAYER, F.; UDDIN, B.; AZIZ, G. Production and characterization of pectinase enzyme from rhizopus oryzae. **Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences**, Vol.11 (1), p.641-651, 2017.

[11] DANALACHE, F.; MATA, P.; ALVES, V. D.; MOLDÃO-MARTINS, M. Chapter 10: Enzyme-assisted extraction of fruit juices. In: G. Rajauria & B. K. Tiwari (Eds.), **Fruit Juices.** p. 183-200. Elsevier, 2018.

[12] DAS, S.; NADAR, S. S.; RATHOD, V. K. Integrated strategies for enzyme assisted extraction of bioactive molecules: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 899-917, 2021.

[13] DELGADO-PELAYO, R.; GALLARDO-GUERRERO, L.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Carotenoid composition of strawberry tree (Arbutus unedo L.) fruits. **Food chemistry**, v. 199, p. 165-175, 2016.

[14] EASTWOOD, M.A. The physiological effect of dietary fiber: an update. **Annu. Rev. Nutr**. v. 12, p. 19-35, 1992.

[15] GARG, G.; SINGH, A.; KAUR, A.; SINGH, R.; KAUR, J.; MAHAJAN, R. G, G. et al. Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. **Biotech**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

[16] HAILE, M.; KANG, W. H. ISOLATION, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. **Microorganisms**, v.7, n.10, 401, 2019.

[17] HAILE, Setegn; AYELE, Abate. Pectinase from Microorganisms and Its Industrial Applications. **The Scientific World Journal**, v. 2022, 2022.

[18] JAYARAJ, J.; DEVLIN, R.; PUNJA, Z. Metabolic engineering of novel ketocarotenoid production in carrot plants. **Transgenic research**, v. 17, n. 4, p. 489-501, 2008.

[19] JAYANI, R. S., SAXENA, S., GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Process Biochemistry**, v.40, n.9, 2931–2944, 2005.

[20] KASHYAP, D.R., VOHRA, P.K., CHOPRA, S., TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review**. Bioresour. Technol.** 77, 215–227, 2001.

[21] KUMAR, S. ROLE of enzymes in fruit juice processing and its quality enhancement. **Adv. Appl. Sci. Res.** v. 6, n. 6, p.114-124, 2015.

[22] LIU, Chenghai et al. Improvement of anthocyanins rate of blueberry powder under variable power of microwave extraction. **Separation and Purification Technology**, v. 226, p. 286-298, 2019.

[23] MACKENZIE, A. K. et al. A polysaccharide utilization locus from an uncultured Bacteroidetes phylotype suggests ecological adaptation and substrate versatility. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 1, p. 187-195, 2015.

[24] MADHAVAN, Aravind et al. Strategies for design of improved biocatalysts for industrial applications. **Bioresource technology**, v. 245, p. 1304-1313, 2017.

[25] MALDONADE, I. R.; SCAMPARINI, A. R. P.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Selection and characterization of carotenoid-producing yeasts from Campinas region, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 65-70, 2007.

[26] MIRANDA, P. H. S. et al. A scientific approach to extraction methods and stability of pigments from Amazonian fruits. **Trends in Food Science & Technology**, v. 113, p. 335-345, 2021.

[27] NAWAWI, M. H.; ISMAIL, K. I.; SA'AD, N.; MOHAMAD, R.; TAHIR, P. M.; ASA'ARI, A. Z.; SAAD, W. Z. Optimisation of Xylanase–Pectinase Cocktail Production with Bacillus amyloliquefaciens ADI2 Using a Low-Cost Substrate via Statistical Strategy. **Fermentation**, v. 8, n. 3, 2022.

[28] NIGAM, P.S.; PANDEY, A. **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization**. Springer, Netherlands, 2009.

[29] Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB), IUBMB.ORG. 2021.

[30] PACHAPUR, Vinayak Laxman et al. Seed pretreatment for increased hydrogen production using mixed-culture systems with advantages over pure-culture systems. **Energies,** v. 12, n. 3, p. 530, 2019.

[31] PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, R.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, n. 2, p. 153-162, 2000.

[32] PANIC, M. V.; GUNJEVIC, G.; CRAVOTTO, I.; REDOVNKOVIC, R. Tecnologia que permitem a extração de antocianinas de bagaço de uva usando solventes eutéticos profundos naturais em lotes de até meio litro de extração de antocianinas de bagaço de uva usando NADES**. Food Chemistry**, p. 125185, 2019.

[33] PAZ, W. H. P.; DE ALMEIDA, R. A.; BRAGA, N. A.; DA SILVA, F. M. A.; ACHO, L. D. R.; LIMA, E. S.; BOLETI, A. P. A.; DOS SANTOS, E. L.; ANGOLINI, C. F. F.; BATAGLION, G. A.; KOOLEN, H. H. F. Remela de cachorro (Clavija lancifolia Desf.) fruits from South Amazon: Phenolic composition, biological potential, and aroma analysis. **Food research international**, 2018-07, Vol.109, p.112-119

[34] PEREIRA, E.; FERREIRA, M. C.; SAMPAIO, K. A.; GRIMALDI, R.; MEIRELLES, A. J. DE A., & MAXIMO, G. J. (2019). Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends. Food Chemistry, 278(June 2018), 208–215. https://doi-org.ez6.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.foodchem.2018.11.016

[35] OUMER, O. J. Pectinase: substrate, production and their biotechnological applications. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology,** v. 2, n. 3, p. 238761, 2017.

[36] RODRIGUEZ-AMAYA, D B. Natural food pigments and colorants. In: Bioactive molecules in food. **Springer**, Cham, p. 867-901, 2019a.

[37] RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Research International**, v. 124, p. 200-205, 2019b.

[38] SAINI, R. K.; KEUM, Y. Carotenoid extraction methods: A review of recente developments. **Food chemistry**, v. 240, p. 90-103, 2018.

[39] SAKAI, Takuo; OKUSHIMA, Minoru. Purification and crystallization of a protopectin-solubilizing enzyme from Trichosporon penicillatum. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 667-676, 1982.

[40] SAKAI, T. Degradation of pectins. **Microbial degradation of natural products.**, p. 57-81, 1992.

[41] SAKAI, Takuo et al. Pectin, Pectinase, and Protopectinase: Production, Properties, and Applications. **Advances in applied microbiology**, v. 39, p. 213-294, 1993.

[42] SAKAMOTO, Tatsuji; HOURS, Alberto-Roque; SAKAI, Takuo. Purification, characterization, and production of two pectic transeliminases with protopectinase activity from Bacillus subtilis. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 58, n. 2, p. 353-358, 1994.

[43] SATAPATHY, S. et al. Biochemical Prospects of Various Microbial Pectinase and Pectin: An Approachable Concept in Pharmaceutical Bioprocessing. **Frontiers in Nutrition,** v. 7, n. 117, 2020.

[44] SHARMA, N.; RATHORE, M.; SHARMA, M. Microbial pectinase: sources, characterization and applications. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 12, n. 1, p. 45-60, 2013.

[45] SHELDON, R. A., & PELT, S. V. Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what and how. **Chemical Society Reviews**, 42(15), 6223–6235, 2013.

[46] SHRESTHA, S.; RAHMAN, M. S.; QIN, W. New insights in pectinase production development and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 9069-9087, 2021.

[47] SRIAMORNSAK, P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. **Silpakorn Univ. Int. J.** 3, 206-228, 2003.

[48] TAPRE, A. R.; JAIN, R. K. Pectinases: enzymes for fruit processing industry. International Food Research Journal, v. 21 n.2, p. 447-453, 2014.

[49] THAKUR, Akhilesh et al. Production, purification, and characterization of polygalacturonase from Mucor circinelloides ITCC 6025. **Enzyme research**, v. 2010, 2010.

[50] TOTI, E. et al. Non-provitamin A and provitamin A carotenoids as immunomodulators: recommended dietary allowance, therapeutic index, or personalized nutrition?. **Oxidative medicine and cellular longevity**, 2018.

[51] UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: industrial applications and prospects. **Química Nova.** v.30, p. 388-394, 2007.

[52] VALDUGA, Eunice et al. Carotenoids production: microorganisms as source of natural dyes. **Química Nova**, v. 32, p. 2429-2436, 2009.

[53] VAZ, R. P.; VICI, A. C.; TEIXEIRA, M. P.; LOURDES, M.; MAGALHÃES, P. O.; FILHO, E. X. F, Immobilization studies of a pectinase produced by Aspergillus terreus. **Biotechnology and applied biochemistry**, Vol.68 (1), p.197-208, 2021.

[54] VESPERMANN, K.A.; PAULINO, B.N.; BARCELOS, M.C.; PESSÔA, M.G.; PASTORE, G.M.; MOLINA, G. Biotransformation of α-and β-pinene into flavoring compounds. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 101, n. 5, p. 1805-1817, 2017.

[55] YU, P.; XU, C. Production optimization, purification and characterization of a heat-tolerant acidic pectinase from Bacillus sp. **International journal of biological macromolecules**, Vol.108, p.972-980, 2018.

[56] ZIA, S. et al. An inclusive overview of advanced thermal and nonthermal extraction techniques for bioactive compounds in food and food-related matrices. **Food Reviews International**, v. 38, n. 6, p. 1166-1196, 2022.

Capítulo 9

Invertase bacteriana: definição e técnicas de purificação

Catarina Francisca Morais Lima Carvalhinho
Larissa Santos Saraiva
Roze Anne Ferreira Lima
Luciana Pereira de Araújo
Rafael Fimani Perna
Jéssica Ferreira de Almeida
Raynne Oliveira Alves
Ezequiel Marcelino da Silva
Erika Carolina Vieira Almeida
Glêndara Aparecida de Souza Martins
Alex Fernando de Almeida

Resumo: A invertase possui a capacidade de produzir açúcar invertido clivando a ligação α-1,4-glicosídica entre d -glucose e d -frutose. Essa enzima pode ser encontrada em diversos seres vivos, como plantas, animais e microrganismos, sendo que a produção microbiana é a mais rápida e vantajosa. Bactérias apresentam grande potencial tecnológico para a produção de invertase, através do cultivo em estado líquido, técnica em que 90% das enzimas microbianas para uso industrial são obtidas. No entanto para a devida utilização da invertase, esta necessita passar por um processo de purificação. Há inúmeras técnicas utilizadas para purificação de invertases de origem microbiana, em especial fungicas e pouco se tem em literatura sobre a purificação de invertases bacterianas, por tanto, reuniu-se nesta revisão as técnicas já empregadas, suas vantagens e desvantagens com relação à purificação de invertases de origem bacteriana.

Palavras-chave: invertase bacteriana, definição e técnicas de purificação.

1. INVERTASE: DEFINIÇÃO E MECANISMO DE AÇÃO

A β-frutofuranosidase (FFase, EC 3.2.1.26), comumente referida como invertase, recebe tal denominação devido à inversão na rotação óptica observada durante a hidrólise da sacarose. Pertencente à família GH32 de glicosilhidrolases, essa enzima catalisa a quebra da ligação glicosídica α1↔2β da sacarose, resultando na produção equimolar de D-glicose e D-frutose, formando uma mistura conhecida como açúcar invertido (Aftab et al., 2021; Oliveira et al., 2020).

No Reino vegetal, as invertases são encontradas no vacúolo ou apoplasto/parede celular, contribuem para a degradação da sacarose compondo uma parte vital do metabolismo vegetal (Manoochehri et al., 2020). Contudo, as invertases de vegetais apresentam algumas limitações para aplicações biotecnológicas, como sazonalidade, alto custo de produção e liberação de subprodutos químicos. Dessa forma, os microrganismos são as fontes mais utilizadas para produção de invertase devido a facilidade de produção, de extração e purificação (Benattouche et al., 2016). Dentre os microrganismos mais utilizados se destacam a *Saccharomyces cerevisiae, Candida spp., Aspergillus niger, Arthrobacter globiformis*, *Bacillus cereus*, *Bifidobacterium* breve e *Lactobacillus reuteri* (Lincoln; More, 2017).

As invertases podem ser classificadas como acidas, neutras e alcalinas sendo as invertases acidas e neutras mais comuns em bactérias (Warchol et al., 2012; Win et al., 2004). Invertases ácidas demonstram uma faixa ótima de pH entre 4,5-5,0, enquanto invertases neutras/alcalinas apresentam sua faixa ótima entre pH 6,5-8. No entanto a grande maioria das invertases apresentam pH ótimo em torno de 4,5 e temperatura ideal, em torno de 55°C (Aftab et al., 2021; Kumari; Sethy, 2020). Quanto ao Km, na literatura, é comum encontrar valores variando de 18,0Mm a 40Mm (Vitolo, 2021). Devido essas características, as invertases têm ganhado destaque devido à sua capacidade de hidrólise da sacarose em condições industriais, facilitando o aumento da produção de xaropes à base de glicose e frutose.

Em relação a estrutura primária, a enzima contém sequências de aminoácidos com três regiões cada uma consistindo em DPN (Dímero de polinucleotídeo), CE (Expressão cíclica) e RDP (Repetição de DNA polimórfico), que podem fazer parte do domínio catalítico e são responsáveis pela ação catalítica da enzima (Pang et al., 2019). A estrutura secundaria parece ser formada principalmente por folha-β pregueada e a na estrutura 3D de invertases bacterianas, observou-se que a região N terminal é composta por cinco folhas-β, enquanto o terminal C é formado por duas folhas-β. (Pang et al., 2019).

2. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE INVERTASE BACTERIANA

Enzimas são moléculas solúveis em água e para serem reutilizadas, precisam ser separadas do meio de cultivo, pois são produzidas em conjunto com outras proteínas que podem apresentar atividade catalítica não desejada, resultando em um acúmulo de contaminantes e sendo prejudicial a economia do processo (Manoochehri et al., 2020).

Após a produção de uma enzima microbiana, aplica-se o processo de lise celular, uma operação unitária importante nos processos de *downstream.* O rompimento celular pode ser realizado através de métodos mecânicos e não mecânicos. Nos métodos mecânicos a força de cisalhamento é empregada para romper a membrana da célula, já os métodos não mecânicos podem ser classificados em químicos, físicos e biológicos (Shehadul et al., 2017). Esse processo é empregado somente para enzimas que são produzidas dentro das

células microbianas, pois enzimas produzidas no meio extracelular não necessitam de um processo de rompimento (Srivastava, 2019). Realizada a lise celular, caso o produto de interesse esteja dentro da célula, faz-se necessário a clarificação da enzima produzida para isto pode ser utilizada a técnica de centrifugação (Kilian; Pessoa, 2021). A centrifugação é um processo simples rápido, eficiente, e possibilita a obtenção de pequenas organelas e frações subcelulares. O princípio da técnica consiste em aplicar uma força centrífuga ao extrato fazendo com que as partículas se sedimentem, as maiores se sedimentam primeiro e no sobrenadante ficam as partículas menores e menos densas (Antunes et al., 2017). Esta é uma técnica comum na purificação de invertases bacterianas (Pek et al., 2017; Jedrzejczak-Krzepkowska et al., 2011; Hoffmann et al., 2020).

A extração de invertases pode ser realizada por diferentes métodos que visam obter preparações enzimáticas purificadas. Um dos métodos mais comuns é a extração a partir de microrganismos, como bactérias e leveduras, que naturalmente produzem invertases **(**Kulshrestha et al., 2013). O processo envolve o cultivo desses microrganismos em meios apropriados, seguido pela ruptura celular para liberar as enzimas (Klobitz, 2010).

Um método tradicional aplicado a invertase bacteriana é a extração intracelular. Isso pode ser alcançado por métodos mecânicos, como homogeneização ou ultrassonicação, ou por métodos químicos, como a utilização de detergentes ou solventes orgânicos. Em seguida, a mistura é centrifugada para separar os componentes celulares, e a fração contendo as invertases é recuperada. Outro método é a extração extracelular, em que as invertases são secretadas pelos microrganismos no meio de cultura. Após o cultivo, o meio é separado das células por centrifugação ou filtração, e as invertases presentes na fração líquida são recuperadas. Posteriormente, as invertases podem ser purificadas através de diversas técnicas (Manoochehri et al., 2020; Kulshrestha et al., 2013).

O principal propósito da purificação de enzimas é eliminar contaminantes, melhorar a estabilidade e prolongar a vida útil. Além disso, a purificação enzimática desempenha um papel crucial na investigação da conformação estrutural, permitindo o estudo de propriedades bioquímicas, tais como parâmetros cinéticos e termodinâmicos, que só podem ser avaliados em sua forma purificada. Possibilita também estudos da relação estrutura- função, da enzima, tornando assim, possível a aplicação dos catalisadores biológicos nos mais diversos campos industriais, pois é a pureza de uma enzima que dita sua atividade, valor comercial e aplicação, uma vez que a purificação é capaz de eliminar alguns inibidores das proteases e outros fatores destrutivos para a estrutura/atividade da enzima (Barbosa et al., 2015; Nadeem et al., 2015; Fasim et al., 2021, Robinson, 2015).

Os processos de purificação de enzimas podem envolver uma ou muitas etapas, onde são combinadas diversas técnicas de alta e baixa resolução, como a adição progressiva de sulfato de amônio, precipitação utilizando etanol ou acetona, ultrafiltração, ultracentrifugação, diálise e cromatografias realizados de forma combinada ou individual na. Tabela 2 estão alguns estão expostos alguns métodos de purificação e suas vantagens e desvantagens.

Tabela 1. Métodos de alta e baixa resolução de purificação de enzimas

Método de Purificação	Resolução	Princípio de Separação	Aplicações	Vantagens	Limitações	Referências
Precipitação com Sais	Baixa	Precipitação com base na solubilidade em diferentes concentrações de sais (como sulfato de amônio).	Concentração inicial e remoção de impurezas grosseiras.	Elevada solubilidade em água, baixa densidade de suas soluções, posição favorável de seus íons na série de Hofmeister em relação à efetividade de precipitação, a ausência de efeitos desnaturantes e sua capacidade de prevenir o crescimento bacteriano na solução, aliadas ao fato de ser economicamente viável mesmo em níveis elevados de pureza.	A presença de sal em ambas as fases formadas requer operações adicionais de purificação para remover o sal da fase precipitada e tratar a fase líquida para possibilitar sua reutilização ou descarte. Estes procedimentos limitam, em certa medida, as aplicações do processo de precipitação por 'salting-out' devido aos custos associados a tais tratamentos.	(POPOVA et al., 2008)
Cromatografia por Troca Iônica	Alta	Separação baseada em cargas elétricas das proteínas.	Separação de proteínas com diferentes cargas.	Possuem as vantagens de baixo preço, boa resistência mecânica e propriedades físicas e químicas estáveis, e também possuem amplas perspectivas de aplicação como transportadores imobilizados	Apresenta limitações como seletividade restrita, sensibilidade a impurezas, necessidade de manutenção regular das colunas, restrições de faixa de pH, capacidade limitada de retenção de íons e complexidade operacional.	(BEDZO et al., 2019)
Cromatografia por Filtração em Gel	Alta	Separação por tamanho molecular.	Remoção de impurezas de menor tamanho.	Destaca-se por separar moléculas com base em seus tamanhos moleculares, removendo eficientemente impurezas menores. Sua natureza suave e não denaturante a torna adequada para moléculas sensíveis. A resolução é mantida altamente específica para as moléculas desejadas e o sistema é mantido para obter estabilidade. A cromatografia de filtração em gel é adequada mesmo para moléculas frágeis	Resolução limitada e a falta de separação baseada em interações específicas são desafios. Restrições de faixa de tamanho, possíveis adsorções e custos associados também devem ser considerados.	(BEZERRA et al., 2005)
Cromatografia de Afinidade	Alta	Uso de ligantes específicos para a enzima alvo.	Alta especificidade, purificação com afinidade.	É notável pela sua alta especificidade, proporcionando purificação altamente seletiva para a molécula desejada.	Custo elevado devido ao uso de ligantes específicos, e a regeneração da coluna pode ser complexa. Além disso, é mais eficaz quando o alvo é conhecido	(MIRANDA et al., 2002)
Eletroforese Capilar	Alta	Separação por carga e mobilidade em campo elétrico.	Alta resolução para moléculas de tamanho semelhante.	É caracterizada por sua alta resolução e baixo consumo de amostra.	É sensível às condições experimentais e pode apresentar limitações quanto ao tamanho e massa molecular das amostras.	(CHIANG; WHANG, 2001)
Cromatografia de Interação Hidrofóbica (HIC)	Alta	Separação baseada na hidrofobicidade relativa.	Útil para enzimas com diferenças sutis em hidrofobicidade.	É útil para moléculas com diferenças sutis em hidrofobicidade, mantendo a estrutura tridimensional de biomoléculas.	Pode ter custos associados à compra de resinas e colunas além de que variações na composição do solvente podem impactar a eluição.	(CAO et al., 2005)

Fonte: Autores (2024).

3. MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE BAIXA RESOLUÇÃO

3.1. PRECIPITAÇÃO

A precipitação é um processo que consiste na separação de substâncias por meio da diminuição da solubilidade de um meio. O objetivo da técnica é obter um precipitado, que mantenham suas características biomoleculares e que, se necessário seja possível realizar a ressolubilização desta amostra sem grandes perdas. A possibilidade de uso de equipamentos simples e o baixo custo do processo são as principais vantagens da técnica, além de que a proteína precipitada não é desnaturada (Kilikia; Pessoa, 2020).

Para as etapas de iniciais de purificação de proteínas, a precipitação com uso de sais é a mais utilizada. O princípio da técnica se baseia na diminuição da solubilidade ocasionada pela dissolução do sal *(salting-out)*, ocasionando a competição dos íons com a proteína pelas moléculas de água e quando removida a camada de hidratação, as interações proteína-proteína se tornam relevantes, a força iônica é aumentada e então as moléculas de interesse se agrupam e precipitam (Deutscher, 1990; Schmidell et al., 2001). Para invertases bacterinas, a técnica de precipitação com sulfato de amônio ou sulfato de sódio são as mais comuns, pois são sais anticaotrópicos, que possuem a capacidade de aumentarem o efeito hidrofóbico das moléculas de proteínas em solução aquosa, desorganizando as estruturas das macromoléculas (Ghosh, 2006). Alguns relatos podem ser citados sobre a utilização desta técnica para purificar invertases de origem bacteriana.

A precipitação com sulfato de amônio tem sido frequentemente empregada na maioria dos estudos para obter a forma bruta da enzima, seguida por múltiplos estágios de separação cromatográfica. Dentre as técnicas cromatográficas aplicadas, destacam-se também a troca aniônica, troca catiônica, filtração em gel, cromatografia em coluna de afinidade, cromatografia líquida rápida de proteínas (FPLC), cromatografia de interação hidrofóbica e cromatofocagem. Entretanto, o processo complexo de purificação subsequente apresenta diversas desvantagens, incluindo a perda da estrutura nativa da proteína devido à agregação, resultando em baixa qualidade do produto e atividade enzimática reduzida, além de ser demorado e insustentável.

Nesse contexto, sistemas bifásicos aquosos (ATPS) como polietilenoglicol 4000/8000 e sulfato de sódio, AOT (di [2-etilhexil] sulfosuccinato de sódio) /sistema de micelas reversas de isooctano, e particionamento trifásico (combinando sulfato de amônio e t-butanol para precipitação de proteínas a partir de extratos brutos) têm demonstrado certas vantagens sobre as técnicas convencionais (Timerman, 2012).

Esta técnica também costuma ser utilizada em combinação com técnicas cromatográficas para alcançar um alto grau de pureza. Park et al. (2001) ao purificar uma invertase de *Bacillus macerans* optou por unir a técnica de precipitação de sulfato de amônio (20-60% de saturação) com cromatografias de troca catiônica e posteriormente a proteína foi submetida a uma técnica de interação hidrofóbica. Em cada uma das etapas citadas foi possível recuperar 76,5%, 36,7 e 0,8% da atividade da enzima. Na tabela 3 encontra-se alguns dados sobre a purificação utilizando a técnica de precipitação aplicadas a invertases bacterianas.

Como as enzimas podem ser hidrofílicas ou hidrofóbicas com solubilidade limitada, sensíveis a grandes oscilações de temperatura e pH, técnicas adequadas devem ser empregadas para evitar o desdobramento ou desnaturação da proteína, indicando que um estudo prévio deve ser realizado ao planejar uma estratégia de purificação enzimática, caso contrário esta etapa pode ser demorada, com alto custo e dispendiosa em uma

produção de larga escala, além de aumentar o gasto de energia pelo processo. Por isso, a origem, a complexidade da enzima, a distribuição das cargas e as propriedades físico-químicas são fatores determinantes num processo de purificação (Arbige et al., 2019; Nadar et al.,2017; Cho., Yun, 2002).

3.2. PRECIPITAÇÕES COM SULFATO DE AMÔNIO

A precipitação com sulfato de amônio é a técnica mais comumente usada para purificação de proteínas tanto em laboratório quanto em larga escala. Baseia-se na alteração da solubilidade das proteínas na presença de sulfato de amônio (Deutscher, 1990; Schmidell et al., 2001). A solubilidade da proteína aumenta além do sulfato de amônio (<0,15 M), efeito denominado *salting in*. Em maiores concentrações desse sal, a solubilidade da proteína geralmente diminui, resultando na precipitação da proteína, efeito esse denominado *salting out*. O mecanismo de salga é baseado na solvatação preferencial devido à exclusão do co-solvente (sal) da camada de hidratação. A precipitação com sulfato de amônio permite a precipitação rápida de proteínas celulares. Portanto, é geralmente útil para as etapas iniciais de purificação (Liu et al., 2023). Também é aplicado nas etapas finais de purificação, por exemplo, após filtração em gel (GF) para concentrar ainda mais a proteína a partir de soluções diluídas. A desvantagem deste método é que às vezes proteínas indesejadas também co-precipitam com as proteínas alvo (Park et al., 2001).

Doan et al. (2021) aplicaram a técnica de precipitação com sulfato de amônio a 60% para purificar uma invertase de *Bacillus licheniformis TKU004*. Quatro etapas de purificação foram aplicadas neste estudo, precipitação com sulfato de amônio, cromatografia de troca iônica e cromatografia de exclusão molecular, sendo possível recuperar em cada uma delas, respectivamente 51, 34%, 34,26% e 1,31% da enzima purificada, sendo que o rendimento final foi de 1,31%. Já Liu et al. (2023) utilizaram a precipitação gradual com sulfato de amônio (10-90%) para purificar uma invertase produzida por *Bacillus metanolicus* LB-1, uma técnica de filtração em gel, também foi adicionada ao processo. Na etapa inicial de precipitação a enzima apresentou 40,01 U/mg de atividade específica e na etapa de filtração em gel, 343,00 U/mg, resultando em um fator de purificação de 59,93.

4. TÉCNICAS DE PURIFICAÇÃO DE ALTA RESOLUÇÃO

4.1. PURIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

A cromatografia de troca iônica é um método muito utilizado para purificação e caracterização de proteínas, que consiste na separação de partículas por meio da carga superficial possibilitando diferentes interações iônicas dessas partículas com sua matriz. A matriz liga variantes com cargas opostas, por meio da hidrofobicidade. Geralmente, é uma técnica utilizada apenas como uma etapa intermediária do processo de purificação necessitando ser aliada a outra etapa, como a filtração em gel (Amartely et al., 2018).

A cromatografia de troca iônica é uma técnica vantajosa, pois é de fácil aplicação em comparação com outras técnicas, pode ser replicada em larga escala, apresenta elevada resolução e grande capacidade de adsorção, além de apresentar uma ampla variedade de matrizes (Kilikian;Pessoa, 2020). No entanto, a triagem das condições para se utilizar a cromatografia de troca iônica é cara, trabalhosa. (Aasim et al., 2022; Farsange et al., 2020).

4.2. PURIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FILTRAÇÃO EM GEL OU EXCLUSÃO MOLECULAR

A cromatografia de filtração em gel, também denominada de cromatografia de exclusão molecular ou por tamanho é uma técnica utilizada na separação de proteínas/enzimas e para estimar o peso molecular. O princípio da cromatografia de filtração em gel é separar a proteína alvo de outros constituintes que são menores ou maiores que ela. Essa separação é conduzida por meio de uma matriz porosa, onde as moléculas apresentam diferentes graus de acesso, por conformação histérica, as moléculas que são maiores são excluídas da matriz com mais rapidez e as menores têm maior acesso (Burgess, 2018; Dong et al., 2020; Winzor, 2003). Apesar de ser uma técnica que apresenta altos custos, é comumente utilizadas na purificação de invertase bacteriana. Na tabela 3 estão descritas algumas técnicas de purificação empregadas em invertases bacterianas.

4.3. PURIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE INTERAÇÃO HIDROFÍLICA (HILIC)

A cromatografia de interação hidrofóbica baseia-se na associação entre proteínas e ligantes hidrofóbicos. Nela acontece a interação entre uma amostra com alta concentração de sal e uma fase estacionaria hidrofóbica, essa alta concentração de sais neutraliza as cargas da proteína, expondo suas cargas hidrofóbicas e permitindo que se liguem a grupos hidrofóbicos da matriz (Almeida, 2018). Esta técnica une os princípios da cromatografia liquida de fase reversa, fase normal e troca iônica e é muito utilizada como uma técnica complementar a outros métodos cromatográficos (Fekete et al., 2014).

O grande diferencial da HILIC é não envolver uma interação direta entre o ligante e a proteína em estudo, pois a interação entre as moléculas de água é que são responsáveis pela força motriz da ligação (Eriksson, 2018). A técnica apresenta algumas vantagens quando comparadas a outros tipos de cromatografia, como diminuição da pressão do sistema, maior preservação da fase estacionaria e maior retenção de analitos polares sem a utilização de reagentes de pareamento iônico. No entanto as principais desvantagens do método são o alto custo do equipamento e a necessidade de operadores experientes (Silva et al., 2016; Koziorowski, 2010).

4.4. PURIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE AFINIDADE

A cromatografia de afinidade pode ser considerada a forma mais seletiva de cromatografia liquida, utiliza como princípio a interação específica entre uma molécula alvo e um agente que seja biologicamente compatível com ela, geralmente através de ligações covalentes (Arora et al., 2017). Nos processos de purificação, ligante e metabolito a ser purificado devem formar um complexo reversível que seja resistente a passagem da amostra e as etapas subsequente de lavagens e que seja desfeito sem desnaturação (Almeida, 2018).

Este é um dos métodos mais eficientes para purificação de proteínas, pois possui alta seletividade e resolução, além de apresentar altas taxas de recuperação do material ativo, e por ser um processo em que a proteína é recuperada em uma única etapa, torna-se um método mais rápido, diminuindo o custo global do processo (Rodriguéz et al., 2020; Singh et al., 2016).

4.5. CROMATOGRAFIA DE INTERAÇÃO HIDROFÓBICA

Nesta técnica de purificação, as proteínas passam por uma coluna cromatográfica recheada com uma resina suporte à qual os grupos hidrofóbicos estão ligados covalentemente. Fenil Sepharose, que contém um grupo fenil, é comumente usado na coluna. Normalmente, a amostra de proteína é preparada em tampão com alto teor de sal. Quando a amostra de proteína passa pela coluna, as proteínas ligam-se ao grupo fenil em virtude de interações hidrofóbicas. As proteínas em uma mistura podem ser eluídas diferencialmente do grupo fenil usando tampão de baixa concentração de sal ou adicionando solventes como polietilenoglicol ao fluido de eluição (Cao et al., 2005).

Tabela 2. Técnicas de purificação aplicadas para invertases bacterianas

Microrganismo	Técnica de purificação	Fator de purificação	Rendimento (%)	Referências
Lactobacillus reuteri CRL 1100	Precipitação com sulfato de amônio (80%); Filtração em gel (Sephadex G-150); Cromatografia de troca iônica (DEAE-Sephacel)	31,2	16,9	(GINES et al., 2000)
B. licheniformis TKU00	Precipitação com sulfato de amônio e cromatografia de exclusão de tamanho	11h 40	1,31	(DOAN et al., 2021)
Bacillus sp. HJ14 foi expresso em *Escherichia coli*	Cromatografia de afinidade quelante de metal Ni $^{2+}$ -NTA.	NR	NR	(ZHOU et al., 2016)
Bacillus Macerans	Precipitação com sulfato de amônio e cromatografia líquidas de proteína rápida	NR	0,8	(PARQUE et al., 2001)
Bacillus cereus	Precipitação de sulfato de amônio (40–80%); Cromatografia DEAE (A-50); Filtração em gel (Sephadex G-75	15h 37	26,6	(YOON et al., 2007)
Lactococcuslactis	Saturação com sulfato de amônio a 60% e por cromatografia de afinidade	NR	14,1	(PEK et al., 2017)
Bifidobacterium longum KN29.1	Precipitação com sulfato de amônio (60%) e cromatografia líquida de filtração em gel	16h 40	11h 35	(JEDRZEJCZAK-KRZEPKOWSKA et al., 2011)
Bacillus methanolicus LB-1	Precipitação fracionada com sulfato de amônio, Sephadex G-75cromatografia de filtração em gel e LC-MS e SDS-PAGE	52,93	NR	(LIU et al., 2023)
Thermotoga neapolitana DSM 435911	Q-Sepharose FF; Sephacryl S-100; HPLC	469,5	25,8	(DIPASQUALE et al., 2009)
Bacillus subtilis LYN12	Cromatografia de filtração em gel	6,94	15,58%	(LINCOLN et al., 2018)
Bacillus sp. SG7	Cromatografia de exclusão por tamanho e cromatografia de troca iônica	10,44	24,7	(IVANOVA et al., 2018)
Arthrobacter globiformis	Precipitação com sulfato de amônio e Cromatografia de troca iônica	37	30	(WIN et al., 2004)

Fonte: Autores (2024).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As invertases bacterianas apresentam eficiência comparável às invertases de leveduras, sugerindo que ambas as fontes microbianas são promissoras para diversas aplicações industriais. A similaridade no desempenho sugere que as invertases bacterianas podem ser viáveis em escala industrial, proporcionando uma alternativa valiosa. No que diz respeito aos custos operacionais, embora seja necessário um exame mais aprofundado, a produção de invertases bacterianas pode se revelar vantajosa no mercado de enzimas. A eficiência, a adaptabilidade em diferentes meios e a rápida multiplicação celular das bactérias sugerem que o processo pode ser otimizado, contribuindo para uma produção mais eficiente e econômica. Invertases bacterianas são, portanto, enzimas promissoras para área de alimentos, mas é necessário que novos estudos sejam conduzidos com foco nos processos de dawstrean, como a recuperação e purificação, uma vez que os processos de purificação podem afetar o rendimento final do produto da fermentação e deve ser minuciosamente estudado para se identificar a técnica mais adequada a fonte de produção e aplicação final desejada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins - FA PT, PROCAD-Amazônia Legal (1707/2018) e ao PDPG-FAP pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor pelo apoio financeiro e científico.

REFERÊNCIAS

[1] AASIM, M.; KHAN, M. H.; BIBI, N. S.; FERNANDEZ-LAHORE, M. Understanding the interaction of proteins to ion exchange chromatographic supports: A surface energetics approach. **Biotechnology Progress**, v. 38, n. 2, p. 1-11,2022.

[2] AFTAB, A.; KHAN, Z, U.; ALI, Production, kinetics and immobilization of microbial invertases for some commercial applications-a review. **Int. J. Biol. Biotech**, v. 18, n. 2, p. 377-388, 2021.

[3] ALMEIDA, M, N.; GUIMARAES, V, M.; FALKOSKI, D, L.; DE CAMARGO, B, R.; FONTES-SANTANA, G, C.; MAITAN ALFENAS, G, P.; DE REZENDE, S, T. Purification and characterization of an invertase and a transfructosylase from Aspergillus terreus. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. e12551, 2018.

[4] ANTUNES, R. S.; LOPES, F. M.; DE OLIVEIRA BRITO, A.; GARCIA, L. F.; DE SOUSA, D. F.; DE SOUZA GIL, E. Enzimas vegetais: Extração e aplicações biotecnológicas. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 3, p. 181-198, 2017.

[5] ARBIGE, M. V.; SHETTY, J. K.; CHOTANI, G. K. Industrial enzymology: the next chapter. Trends in biotechnology, v. 37, n. 12, p. 1355-1366,.2019.

[6] ARORA,S.;SAXENA, V.; AYYAR, B. V.; VIJAYALAKSHMI. Affinity chromatography: A versatile technique for antibody purification. **Methods**, v.116, p. 84-94, 2017.

[7] BARBOSA, O.; ORTIZ, C.; BERENGUER-MURCIA, Á.; TORRES, R.; RODRIGUES, R. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Strategies for the one-step immobilization–purification of enzymes as industrial biocatalysts. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 5, p. 435-456, 2015.

[8] BARBOSA, O.; ORTIZ, C.; BERENGUER-MURCIA, Á.; TORRES, R.; RODRIGUES, R. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Strategies for the one-step immobilization–purification of enzymes as industrial biocatalysts. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 5, p. 435-456, 2015.

[9] BEDZO, O.K.; TROLLOPE, K.; GOTTUMUKKALA, L. D; COETZEE, G.; GORGENS,J. F. Amberlite IRA 900 versus calcium alginate in immobilization of a novel, engineeredβ-fructofuranosidase for short-chain fructo-oligosaccharide synthesis from sucrose. **Biotechnology progress,** v. 35, n. 3, 2019.

[10] BEZERRA, R. S.; LINS, E. J.; ALENCAR, R. B.; PAIVA, P. M.; CHAVES, M. E.;COELHO, L. C.; CARVALHO

JR, L. B. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia(Oreochromis niloticus). **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1829-1834,2005.

[11] BURGESS, R. R. A brief practical review of size exclusion chromatography: Rules of thumb, limitations, and troubleshooting. **Protein expression and purification**, v. 150, p. 81-85,2018.

[12] CAO, X.Z.; JIN, Z.Y.; WANG, X.; CHEN, F. A Novel Cyclodextrin Glycosyltransferase from an Alkalophilic Bacillus Species: Purification and Characterization. **Food Res. Int**. v. 38, p. 309-314,2005.

[13] CHENG, J.; HUANG, M.; SHEN, C.; XU, K.; XIAO, Y., FANG, Z. Identification of an invertase with High specific activity for raffinose hydrolysis and its application in soymilk treatment. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 646801,2021.

[14] CHIANG, M.T.; WHANG, C.W. Tris (2, 2′-bipyridyl) ruthenium (III)-base delectrochemiluminescence detector with indium/tin oxide working electrode for capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography**, v. 934, n. 1-2, p. 59-66, 2001.

[15] CHO, Y. J.; YUN, J. W. Purification and characterization of an endoinulinase from Xanthomonas oryzae No. 5. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 11, p. 1325-1331, jun,2002.

[16] DEUTSCHER, Murray P. Maintaining protein stability. In: HANS, R (Coord). Methods in enzymology. ed, New York **: Academic Press**, 1990.

[17] DIPASQUALE, L.; GAMBACORTA, A.; SICILIANO, R. A.; MAZZEO, M. F.; LAMA, L. Purification and biochemical characterization of a native invertase from the hydrogen- producing Thermotoga neapolitana (DSM 4359). **Extremophiles**, v. 13, p. 345-354, 2009.

[18] DOAN, C. T., TRAN, T. N., NGUYEN, T. T., TRAN, T. P. H., NGUYEN, V. B., TRAN,T. D.; WANG, S. L. Production of Sucrolytic Enzyme by Bacillus licheniformis by the Bioconversion of Pomelo Albedo as a Carbon Source. **Polymers**, v. 13, n. 12, p. 1959, 2021.

[19] DONG, S. DONG, S.; JIANG, Z.; LIU, Z.; CHEN, L.; ZHANG, Q., TIAN, Y.; CAO, C.Purification of low-abundance lysozyme in egg white via free-flow electrophoresis with gel-filtration chromatography. **Electrophoresis**, v. 41, n. 17, p. 1529–1538, 2020.

[20] ERIKSSON, K.O. Hydrophobic interaction chromatography. In: Biopharmaceutical Processing. 1. ed. **Elsevier**, 2018. p. 401-408.

[21] FARSANGE, E.; GUILLARME, D.; VEUTHEY, J. L. B. A.; LAUBER, M.;SCHAMUDLAVH, A.; FEKETE, S. Coupling non-denaturing chromatography to massspectrometry for the characterization of monoclonal antibodies and related products.Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 185, p. 113207, jun. 2020.

[22] FASIM, A.; MORE, V. S.; MORE, S. Large-scale production of enzymes for biotechnology uses. **Current opinion in biotechnology**, v. 69, p. 68-76, 2021.

[23] FEKETE, S.; SCHAPPLER, J.; VEUTHEY, J. L.; GUILLARME, D. Current and future trends in UHPLC. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 63, p. 2-13, dec.2014.

[24] FISCHER, J.; LOPES, V.; SANTOS, E. F. Q.; FILHO, U.; CARDOSO, V. Second generation ethanol production using crude enzyme complex produced by fungi collected in Brazilian Cerrado (Brazilian Savanna).**Chemical Engineering Transactions**, v. 38, p. 487-492, 2014.

[25] GHOSH, Raja. **Principles of Bioseparations Engineering**. Singapore: World Scientific Publishing, 2006.

[26] GINES, S. C. D.; MALDONADO, M. C.; VALDEZ, G. F. D. Purification and characterization of invertase from Lactobacillus reuteri CRL 1100**. Current Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 181, 2000.

[27] HOFFMANN, J, J.; HÖVELS, M.; KOSCIOW, K.; DEPPENMEIER, U. Synthesis of the alternative sweetener 5-ketofructose from sucrose by fructose dehydrogenase and invertase producing Gluconobacter strains. **Journal of biotechnology**, v. 307, p. 164-174, 2020.

[28] JEDRZEJCZAK-KRZEPKOWSKA, M.; TKACZUK, K. L.; BIELECKI, S. Biosynthesis, purification and characterization of β-fructofuranosidase from Bifidobacterium longum KN29. 1. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 10, p. 1963-1972, 2011.

[29] KILIKIAN, B. V.; PESSOA JR, A**. Purificação de produtos biotecnológicos - operações e processos com aplicação industrial**. 2. ed. São Paulo: Blucher, v. 1, 2020.

[30] KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de Alimentos. Teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2010.10, p. 2833, 2021.

[31] KOZIOROWSKI, J. A simple method for the quality control of . **Applied radiation and isotopes**, v. 68, n. 9, p. 1740-1742, 2010.

[32] KUMAR, R.; KESAVAPILLAI, B. Stimulation of extracellular invertase production from spent yeast when sugarcane pressmud used as substrate through solid state fermentation. **SpringerPlus**, v. 1, p. 1-6, 2012.

[33] LIMA, V.M.G.; KRIEGER, N.; SARQUIS, M.I.M.; MITCHELL, D.A.; RAMOS, L.P.; FONTANA, J.D., Effect of the nitrogen and carbon sources on lipase production by Penicillium aurantiogriseum. **Food Technology and Biotechnology**, v.41, p.105-110, 2003

[34] LINCOLN, L.; MORE, S. S. Comparative evaluation of extracellular β-d-fructofuranosidase in submerged and solid-state fermentation produced by newly identified Bacillus subtilis strain. **Journal of applied microbiology**, v. 125, n. 2, p. 441-456, 2018.

[35] LINCOLN, L.; MORE, S.; REDDY, S. Purification and biochemical characterization of β-d-fructofuranosidase from Bacillus subtilis LYN12. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 12592, 2018.

[36] LINCOLN, L; MORE, S.S. Bacterial invertases: occurrence, production, biochemical characterization, and significance of transfructosylation. **Journal of basic microbiology**, v. 57, n. 10, p. 803-813, 2017.

[37] LIU, J.; MA, Y.; ZHANG, M.; LAI, T.; WANG, Y.; YANG, Z. Biosynthesis of lactosucrose by a new source of β-fructofuranosidase from Bacillus methanolicus LB-1. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 135, n. 2, p. 118-126, 2023.

[38] MANOOCHEHRI, H.; HOSSEINI, N. F.; SAIDIJAM, M.; TAHERI, M.; REZAEE, H.; NOURI, F.A review on invertase: Its potentials and applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, p. 101599, 2020.

[39] MIRANDA, M. V.; MAGRI, M. L.; DEL CANIZO, A. N.; CASCONE, O. Study of variables involved in horseradish and soybean peroxidase purification by affinity chromatography on concanavalin A-Agarose. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 537-543, dec. 2002.

[40] MURAMATSU, K., ONODERA, S., KIKUCHI, M., SHIOMI, N. Purification and some properties of β-fructofuranosidase from Bifidobacterium adolescentis G1. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 57, n. 10, p. 1681-1685, 1993.

[41] NADEEM, H.; RASHID, M.H.; SIDDIQUE, M.H.; AZEEM, F.; MUZAMMIL, S.,JAVED, M. R.; RIAZ, M. Microbial invertases: A review on kinetics, thermodynamics,physiochemical properties. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 8, p. 1202-1210, aug.2015.

[42] OLIVEIRA, R, L. de.; SILVA, M, F, da.; CONVERTI, A.; PORTO, T, S. Production of β-fructofuranosidase with transfructosylating activity by Aspergillus tamarii URM4634 Solid-State Fermentation on agroindustrial by-products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 343-350, 2020.

[43] PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products, **Process Biochemistry,** v.35, p.1153– 1169, 2000.

[44] PANG, W. C.; RAMLI, A. N. M.; JOHARI, N. D. Structural properties, production, and commercialisation of Invertase. **Sains Malaysiana**, v. 48, n. 3, p. 523-531, 2019.

[45] PARK, J. P.; OH, T. K.; YUN, J. W. Purification and characterization of a novel transfructosylating enzyme from Bacillus macerans EG-6. **Process Biochemistry,** v. 37, n.5, p. 471-476, dez. 2001.

[46] PEK, H. B.; LIM, P. Y.; LIU, C.; LEE, D. Y.; BI, X,; WONG, F. T.; OW, D. S. W. Cytoplasmic expression of a thermostable invertase from Thermotoga maritima in Lactococcus lactis. **Biotechnology letters**, v. 39, p. 759-765, 2017.

[47] POPOVA, E.; WATANABE.; E. O.; PESSÔA FILHO, P. A.; MAURER, G. Phase equilibria for salt-induced lysozyme precipitation: Effect of salt concentration and pH. **Chemical Engineering and Processing**, v. 47, p.1026- 1033,2008.

[48] RAMAMOORTHY, N, K.; SAMBAVI, T, R.; RENGANATHAN, S. A study on cellulase production from a mixture of lignocellulosic wastes. **Process Biochemistry2,** v. 83, p. 148–158, 2019.

[49] ROBINSON, P, K., PETER, K. Enzymes: principles and biotechnological applications. **Essays in biochemistry**, v. 59, p. 1, 2015.

[50] SADH, P.K.; DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 1, p. 1-15, 2018.

[51] SANTOS, P. S. D.; SOLIDADE, L. S.; SOUZA, J. G. B.; SAMPAIO G.; BRAGA Jr, A. C. R.; ASSIS, F. G. D. V. D.; LEAL, P. L. Fermentação em estado sólido em resíduos agroindustriais para a produção de enzimas: uma revisão sistemática. **The Journal of Engineering and Exact Sciences.** v. 4, n 2, 2018.

[52] SCHMIDELL, Willibaldo.; DE ALMEIDA, Urgel.; BORZANI, Walter.; AQUARONE,Eugenio. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Blucher, 2001.

[53] SHEHADUL I, M.; ARYASOMAYAJULA, A.; SELVAGANAPATHY, P. R.A review on macroscale and microscale cell lysis methods. **Micromachines**, v. 8, n. 3, p. 83, 2017.

[54] SINGH, R.; KUMAR, M.; MITTAL, A.; MEHTA, P, K. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. 3 Biotech, v. 6, p. 1-15, 2016.

[55] SOCCOL, C. R.; DA COSTA, E. S. F.; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L., DE SOUZA., VANDENBERGHE, L. P. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52-71, 2017.

[56] SRIVASTAVA, N.; RATHOUR, R, J.H.A. S.; PANDEY, K.; SRIVASTAVA, M.;THAKUR, V. K.; MISHRA, P. K. Microbial beta glucosidase enzymes: Recent advances in biomass conversation for biofuels application. **Biomolecules,** v. 9, n. 6, p. 220, 2019.

[57] TIMERMAN, A, P, The isolation of invertase from baker's yeast—an introduction to protein purification strategies. In: KAUMAYA, P.(coord). **Protein Purif**, Rijeka: Intech Open, 2012. p. 29-52, 2012.

[58] VITOLO, M. Overview on invertase. **World J. Pharm. Pharm**. v. 10, p. 49-73, 2021.

[59] WIN, T. T.; ISONO, N.; KUSNADI, Y.; WATANABE, K.; OBAE, K.; ITO, H.; MATSUI, H. Enzymatic synthesis of two novel non-reducing oligosaccharides using transfructosylation activity with β-fructofuranosidase from Arthrobacter globiformis. **Biotechnology letters**, v. 26, p. 499-503, 2004.

[60] WINZOR, Donald J. Analytical exclusion chromatography. Journal of biochemical and biophysical methods, v. 56, n. 1-3, pág. 15-52, 2003.

[61] YOON, M, H.; CHOI, W, Y.; KWON, S.J.; YI, SH.; LEE, D. H.; LEE, J,S.Purification and properties of intracellular invertase from alkalophilic and thermophilic Bacillus cereus TA-11. **Journal of Applied Biological Chemistry**, v. 50, n. 4, p. 196-201, 2007.

[62] ZANELATO, A. I. Produção de enzimas celulolíticas por fermentação em estado sólido em biorreator de leito fixo. 2011. 116f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - **Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista**, São José do Rio Preto, 2011.

[63] ZHOU, J.; HE, L.; GAO, Y.; HAN, N.; ZHANG, R.; WU, Q.; HUANG, Z. Characterization of a novel low-temperature-active, alkaline and sucrose-tolerant invertase. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 32081, 2016.

Autores

AUTORES

ADILON MARTINS ROCHA

Mestrando no Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Tocantins – Campus Gurupi. Com ênfase em Produção Vegetal – Fitotecnia. Durante a graduação, fui bolsista no grupo de pesquisa: Caracterização de Compostos Bioativos de Fungos e Plantas Aplicados a Biotecnologia e Engenharia de Materiais. Formado em Técnico em Agronegócios pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins – Campus Gurupi (2015). Formado em Engenharia Agronômica pela Universidade Federal do Tocantins (UFT) – Campus Gurupi. Mestrando em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Tocantins (UFT)

AGOSTINHO CARDOSO HLAVANGUANE

PE, 2017, com tema Gênese e intemperismo de solos formados por Anortositos no Complexo metanortosítico de Passira-PE. Possui graduação em Engenharia Agrícola pelo Instituto Superior Politécnico de Gaza (2009). Atualmente é assistente universitário do Instituto Superior Politécnico de Gaza. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Ciência do Solo. Atualmente (2023) é estudante de doutorado em Produção Vegetal, no Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins-TO, Campus Gurupi, orientação para Fertilidade dos Solos

ALEX FERNANDO DE ALMEIDA

Docente associado da Universidade Federal do Tocantins - Colegiado de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Atua nas áreas de Processos Microbiológicos - com ênfase em análises microbiológicas e de processos fermentativos e Processos Enzimáticos - com ênfase em recuperação, purificação, imobilização e caracterização de enzimas de interesse industrial.

ALLAN SALES DE SOUSA

Possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal do Tocantins (2017) e Mestrado em Produção Vegetal na Universidade Federal do Tocantins (2018-2019). Trabalhou Instituto Federal do Tocantins, Campus de Lagoa da Confusão como professor substituto, atualmente Doutorando em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Tocantins.

ANA CAROLINE RAIMUNDINI ARANHA

Possui graduação e mestrado em Engenharia Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, doutorado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá e pós graduação em Educação Inovadora: Mindset Aplicado à Educação, Docência no ensino superior e Engenharia de Segurança do Trabalho. Durante a graduação participou do projeto de extensão intitulado como melhoria da qualidade do ensino-aprendizagem em jovens carentes (2016-2017) e atuou como monitora na disciplina de Cinética Química e Reatores 2 (2018). Atuou como professora mediadora I em Engenharia Mecatrônica na instituição de ensino Unicesumar e atualmente atua como professora na Universidade Estadual de Maringá.

BRUNO RAFAEL DEL RIO VIEIRA

Graduado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) no campus Apucarana (2014-2019), realizou algumas pesquisas de iniciação científica, trabalhou no estudo na Dinâmica de Fluidos Computacional (DFC) para escoamentos compressíveis verificando diferentes modelos de variação de viscosidade utilizando pacote computacional ANSYS para confecção de malhas pela Fundação Araucária (2014-2015). Trabalhou com recursos educacionais no desenvolvimento de um aplicativo de didática para professores do ensino superior na área de ciências térmicas bolsista também pela Fundação Araucária (2015-2016).Trabalhou com biotransferência de calor na pele humana usando método de perturbação para descrever o perfil de calor (2016-2017). Mestre pela UTFPR na área de processos de separação pela pesquisa: "sintetização de carbono ativado magnético sua aplicação na adsorção do azul de metileno".

AUTORES

CARMIRAN BATISTA TURÍBIO

Graduada em Engenharia Agronômica pelo Instituto Federal do Estado do Tocantins (IFTO) - Campus Dianópolis - TO, Mestra em Agronomia pela Universidade de Brasília (UnB) e Pós - graduanda em Perícia, Auditoria e Licenciamento Ambiental pela Universidade Federal do Goiás (UFG). Experiência com administração rural com ênfase na agropecuária e gestão de fazendas produtoras de gado de corte no estado do Tocantins e Minas Gerais. Áreas de interesse: Docência; Capacitação; Treinamentos; Administração Rural; Gestão de Pastagem; Plantio de Milho para Silagem; Planejamento Agropecuário; Geoprocessamento em Zonas Rurais; Geoestatística Aplica na Agropecuária e Estudo de Uso e Ocupação do Solo em Bacias Hidrográficas e Analise de Evapotranspiração com Uso de Drones.

CAROLINA PEREIRA DE PAULA

Graduada em Engenharia Agronômica pelo Instituto Federal do Estado do Tocantins (IFTO) - Campus Dianópolis - TO, Mestra em Agronomia pela Universidade de Brasília (UnB) e Pós - graduanda em Perícia, Auditoria e Licenciamento Ambiental pela Universidade Federal do Goiás (UFG). Experiência com administração rural com ênfase na agropecuária e gestão de fazendas produtoras de gado de corte no estado do Tocantins e Minas Gerais. Áreas de interesse: Docência; Capacitação; Treinamentos; Administração Rural; Gestão de Pastagem; Plantio de Milho para Silagem; Planejamento Agropecuário; Geoprocessamento em Zonas Rurais; Geoestatística Aplica na Agropecuária e Estudo de Uso e Ocupação do Solo em Bacias Hidrográficas e Analise de Evapotranspiração com Uso de Drones.

CAROLINE CRIVELARO DE OLIVEIRA

Graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá (2022), Pós-Graduação em Gestão da Qualidade pela Unicesumar (2023), com CRQ-PR Definitivo - Ativo (Natureza: Eng. Química). Mestranda em Ciência de Alimentos UEM (2024- Atual).

CATARINA FRANCISCA MORAIS LIMA CARVALHINHO

Nutricionista. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Tocantins

CLAUDETE MARIA DA SILVA MOURA

Docente do curso Bacharelado em Zootecnia. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Campus Santa Inês, Santa Inês - BA, 45320-000, Brasil.

DEISE MOLINARI

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Mestre em Bioenergia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), possui Especialização em Engenharia de Produção pela Uninter e formação em Tecnologia em Alimentos, pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Atuando principalmente nos seguintes temas: desenvolvimento e otimização de processos; processos biotecnológicos e bioquímicos; tecnologia enzimática; tecnologia em óleos e gorduras; biocatalisadores; pesquisa e desenvolvimento; energias renováveis; biocombustíveis; estatística e planejamento experimental; Segurança alimentar e microbiologia de alimentos. Atualmente é professora no curso de Engenharia de Produção (EAD e Híbrido), e Gestão da Produção Industrial na Unicesumar.

DULCICLER NELO MARIANO

Possui graduação em Pedagogia pela Universidade Norte do Paraná (2023). Atualmente é cozinheira - EMEI Creche Licia Pecchio Silveira.

AUTORES

ELIENAE DA SILVA GOMES

Doutoranda em Ciências de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá e Mestra em Engenharia de Alimentos Pela Universidade Estadual de Maringá (2023) , Licenciada em Ciências Biológicas- Faculdade Campos Eliseos (2020) Pós Graduada em em Gestão em Segurança Alimentar -Universidade de Araraquara (2014). Graduada em Engenharia de alimentos pela Universidade Metodista de Piracicaba(2009) Na pesquisa acadêmica atuação no desenvolvimento e obtenção de produtos probióticos e prebióticos e no desenvolvimento para o método de otimização da extração de oligossacarídeos do leite humano. Experiência como docente em Ciências Exatas. Experiência como engenheira de alimentos na área da garantia e controle da qualidade, supervisão da qualidade, responsável técnica.

EMERSON BARRIOS MOGOLLON

Estudante de doutorado em engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá. Possui graduação em Ingeniería Química - Universidad Industrial de Santander (2015) e mestrado em engenharia química na universidade estadual de Maringá (2020).. Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Catálise Heterogênea. Atualmente desenvolve pesquisa na produção de Bioquerosene a partir de óleos vegetais mediante reações catalíticas.

ERIKA CAROLINA VIEIRA ALMEIDA

Farmacêutica. Mestre em Biotecnologia. Universidade de Gurupi.

EZEQUIEL MARCELINO DA SILVA

Engenheiro Químico. Doutor em Biotecnologia Industrial. Universidade Federal do Tocantins

GLAYCIANE COSTA GOIS

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal do Maranhão, 65500-000, Chapadinha/MA, Brasil.

GLÊNDARA APARECIDA DE SOUZA MARTINS

Engenheira de Alimentos. Doutor em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal do Tocantins

ILDON RODRIGUES DO NASCIMENTO

Possui graduação em Agronomia pela Universidade do Tocantins (2001), mestrado em Agronomia (Fitotecnia) e doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela Universidade Federal de Lavras (2005). Entre 2005 e 2008 foi docente na Unicentro - Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná. Em maio de 2008 ingressou como professor na UFT - Fundação Universidade Federal do Tocantins, onde ministra as disciplinas de Olericultura I e II na graduação. É professor permanente dos programas de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Biotecnologia, onde ministra as disciplinas Produção de Hortaliças, Técnicas Estatística na Condução de Experimentos Agrícolas e Estatística Básica. Atualmente é professor Associado III da Fundação Universidade Federal do Tocantins. É membro do Comitê Interno de Avaliação de projetos PIBIC (desde de 2009) e do Comitê Gestor do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Tem experiência na área de Agronomia/Genética e Melhoramento Vegetal/Estatística Experimental/Fitotecnia/Olericultura. Desenvolve pesquisas na área de produção/manejo de hortaliças e melhoramento genético de hortaliças nas culturas da melancia, batata-doce, tomate, pimentão e alface. É delegado da Associação Brasileira de Horticultura - ABH, no Estado do Tocantins.

AUTORES

JÉSSICA FERREIRA DE ALMEIDA

Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Federal do Tocantins

JOSÉ ANDERSON DA SILVA

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina – PE, 56300-000, Brasil.

JULIANA FERREIRA DE ALMEIDA

Discente Bacharelado em Zootecnia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Campus Santa Inês, Santa Inês - BA, 45320-000, Brasil.

JULIE SUZAN DA SILVA

Graduanda em Engenharia de Alimentos -UEM

LARISSA SANTOS SARAIVA

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Tocantins

LUCIANA PEREIRA DE ARAÚJO

Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia. Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Tocantins

MARIA DA CONCEIÇÃO TAVARES CAVALCANTI LIBERATO

Possui graduação em Química Industrial pela Universidade Federal do Ceará (1973), especialização em Química Orgânica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (1979), mestrado em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará (2002). É Doutora em Biotecnologia em Recursos Naturais pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO). É Professora Associado com dedicação exclusiva da Universidade Estadual do Ceará e Professora Colaboradora do Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais (MARENA), do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em Química, Física, Fisico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat-Primas Alimentares, atuando principalmente nos seguintes temas:como mel, própolis e pólen das abelhas Apis mellifera e Melipona subnitida, compostos fenólicos, flavonóides, antocianinas, microbiologia de alimentos e Educação em Química.

NOÉ MITTERHOFER EITERER PONCE DE LEON DA COSTA

Graduado em Agronomia, mestre e doutor em Estatística Aplicada e Biometria pela Universidade Federal de Viçosa. Atualmente é docente na Universidade Federal do Tocantins, câmpus de Gurupi, atuando nas disciplinas de Estatística Básica e Experimental do curso de Agronomia. Desenvolve pesquisas em predição genômica, aprendizado de máquina, modelos de regressão não linear e multivariada não linear.

PITHER JHOEL JAVIER SUCARI

Doutorando em Ciências de Alimentos- UEM

RAFAEL FIMANI PERNA

Engenheiro Químico. Doutor em Engenharia Química. Universidade Federal de Alfenas

AUTORES

RAFAEL FIRMANI PERNA

Engenheiro químico. Doutor em Engenharia Química. Universidade Federal de Alfenas

RAYNNE OLIVERIA ALVES

Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Federal do Tocantins

ROZE ANNE FERREIRA LIMA

Tecnóloga em Alimentos. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Tocantins

VINÍCIO DOS SANTOS CARDOSO

Doutorando em Zootecnia

YESENIA MILAGROS TURPO MAMANI

Engenheira agroindustrial - UNAP

www.poisson.com.br
contato@poisson.com.br

@editorapoisson

https://www.facebook.com/editorapoisson